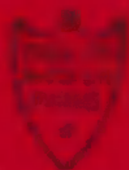
ISSN 0181-1584

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 11 Fascicule 4 1990

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS



PUBLICATION TRIMESTRIELLE Décembre 1990

SOMMAIRE

CONTENTS

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 11 Fascicule 4 1990

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM



DIRECTEUR SCIENTIFIQUE : Madame J. NICOT
SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.-C. BOISSELIER. ÉDITEUR : A.D.A.C.

Publié avec le concours du Muséum National d'Histoire Naturelle

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE est indexé par : *Biological Abstracts*, *Current Contents*, Publications bibliographiques du CDST (Pascal).



FUNGI ISOLATION FROM LEAVES OF SOME MEDITERRANEAN EVERGREEN SCLEROPHYLLOUS SHRUBS. ENZYMATIC ACTIVITY OF THE ISOLATED FUNGI

by S. MARAKIS and S. DIAMANTOGLOU

University of Athens, Institute of General Botany,
157 84 Athens, Greece.

ABSTRACT - The young leaves of *Olea europaea* L. var. *silvestris* Brot., *Ceratonia siliqua* L., *Quercus coccifera* L. and *Pistacia lentiscus* L. are richer in nitrogen and tannins but poorer in carbohydrate contents compared to those of mature leaves. Forty fungal species belonging to 27 genera were isolated. The species isolated from mature leaves were about 2-4 times greater in number than the ones isolated from young leaves. *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* and *Penicillium glabrum* were the most common fungi isolated during the survey. The greater number of fungal species was isolated from *O. europaea* leaves, while the smaller from *Q. coccifera*. Many fungi were common saprophytes while others were plant pathogens. The leaf tannin fraction precipitated by Tween 80 favored the growth of the fungi isolated from leaves rich in this tannin fraction. The tannase activity depended on fungal species and the leaves where fungi were isolated. The fungi isolated from *Q. coccifera* leaves presented the higher tannase activity. *Trichoderma viride* and *A. carbonarius* presented the higher cellulase and tannase activity respectively.

RÉSUMÉ - Les jeunes feuilles d' *Olea europaea* L. var. *silvestris* Brot., *Ceratonia siliqua* L., *Quercus coccifera* L. et *Pistacia lentiscus* L. sont plus riches en azote et en tanins mais plus pauvres en glucides que les feuilles âgées. Quarante espèces fongiques appartenant à 27 genres ont été trouvées. Les espèces fongiques isolées des feuilles âgées sont 2-4 fois plus nombreuses que celles des jeunes feuilles. *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* et *Penicillium glabrum* sont les champignons les plus communs. Le plus grand nombre d'espèces fongiques est isolé des feuilles d' *O. europaea*, tandis que le plus petit nombre correspond à *Q. coccifera*. Plusieurs champignons sont des saprophytes communs tandis que d'autres sont des pathogènes des plantes. La fraction des tanins des feuilles, précipitée par le Tween 80, favorise la croissance des champignons isolés des feuilles riches en cette même fraction. L'activité tannase dépend des espèces fongiques et des feuilles d'où proviennent les champignons. Les champignons des feuilles de *Q. coccifera* présentent la plus haute activité en tannase. *Trichoderma viride* et *A. carbonarius* présentent respectivement la plus haute activité en cellulase et en tannase.

KEY WORDS : Maquis fungal flora, tannins, tannase, cellulase.

INTRODUCTION

Aiming the microbial degradation of tannins and lignocellulose, we undertook a fungal screening from leaves of some evergreen sclerophyllous shrubs (*Ceratonia siliqua* L., *Quercus coccifera* L., *Pistacia lentiscus* L., *Olea europaea* L. var. *silvestris* Brot.). These "maquis" were preferred for the significant tannin content of the first three species. Consequently, fungi with high tannin-lignocellulolytic activity could be isolated. Fungi with such abilities could be used for upgrading carob bean value. Deseeded carob pod contains: water soluble sugars (60%), lignin 12.5%, tannins 6%, cellulose 6% and hemicelluloses 4.8% (Marakis, 1980; Marakis et al., 1987).

The carob bean fungal flora was determined by Charpentié & Marakis (1980). Some of these fungi presented high tanninolytic activity (Marakis, 1980, 1985).

Saccardo (1898) carried out the first fungal survey on *C. siliqua*. He cited several fungi e. g. *Phyllosticta ceratoniae* Berk., *Septoria carrubi* Pass. and *Sphaerella ceratoniae* Pass. Sixty years later, several phytopathologists isolated some pathogenic fungi as: *Oidium ceratoniae* Comes. (Graniti, 1958), *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & v. Schrenk (Martelli, 1961) and *Diplodina ceratoniae* Sarejanni (Demetriades et al., 1959). Recently, fungal species, belonging to 12 genera, were isolated from carob leaves and fruits for the first time in Portugal (Moreira, 1987). The fungus-host index for Greece (Pantidou, 1973) includes fungal species isolated from *O. europaea*, *C. siliqua*, *P. lentiscus* and *Q. coccifera*.

The above mentioned studies (besides that of Charpentié & Marakis, 1980) have to be mainly with parasitic and pathogenic fungi. Yet, the distribution of fungi occurring on leaves of the under study evergreen sclerophyllous shrubs in Greece, as well as the tannino-cellulolytic activity of these fungi have not been studied.

Aim of this study is to determine fungi occurring on the young, mature and fallen leaves (litter) of *O. europaea* var. *silvestris*, *C. siliqua*, *P. lentiscus* and *Q. coccifera* shrubs, as well as the tannase and cellulase activity of the isolated fungi.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of leaf extract and TPT fraction

The tannin fraction precipitated by Tween 80 (TPT fraction) was prepared as follows: 0.4kg of freeze-dried and milled (2mm sieve) leaves of each examined shrubs was mixed with 2.5l of deionized water and autoclaved for 30 min at 121°C. The slurry was passed through cheesecloth and the extracted leaves resuspended in 1.5l of deionized water and autoclaved once again. 0.15g sodium pyrosulfite has been added to prevent tannin oxidation, and the two filtrates were combined (leaf extract).

The TPT fraction was precipitated by addition of 5ml Tween 80 per litre of leaf extract. This tannin fraction was filtrated and dried by lyophilization.

Media

1. For isolation of fungi, many common standard or selective media [Czapek-Dox, potato dextrose, malt extract, lupin stems, corn meal, oatmeal, hay-infusion agar, etc. (Miller et al., 1957; Raper & Fennell, 1965; Booth, 1971; von Arx, 1981; Burns & Slater, 1982)] were used. The media A1-4 (of Czapek-Dox type) also used, contained 10% w/v leaf powder rather than 3% sucrose. So, the indexes 1,2,3,4 represent the leaf powder of *O. europaea*, *C. siliqua*, *Q. coccifera* and *P. lentiscus* respectively. Chloramphenicol (0.05 mg/ml of medium) was added in order to supress bacterial growth.

2. Medium B, contained (g/l): TPT fraction, 20; $(NH_4)_2$ SO_4, 5; K_2HPO_4, 1; $MgSO_4.7H_2O$, 0.5: KCl, 0.5: $ZnSO_4$, 0.01; $CuSO_4.5H_2O$, 0.005; biotin, 0.04; thiamine, 1; pyridoxine hydrochloride, 0.5; and nicotinic acid, 0.5. The pH was adjusted to 5-5.5.

3. Medium C: the salts of medium were the same with those used by Peitersen (1975), supplemented with 2% cellulose.

4. Medium D: its composition was the same with the medium used by Yamada et al. (1968).

The media were sterilized by autoclaving (15 min., 121°C).

Isolation of fungi

During the spring of 1985, 150 leaves [50 of each: fallen (usually drying or decaying), mature and young] were sampled from various parts of each shrub, and brought to the laboratory in sterilized glass bottles. Then, the leaves were aseptically cut into pieces 0.5-1.5cm long. Samplings were repeated the next two years from the same shrubs and season, from several districts of Greece.

Five pieces from the leaves of each category were mixed with 10ml of medium (43°C) into a petri dish by simultaneous stirring. Another five leaf pieces were placed on solid medium. The petri dishes were grouped according to the used growth medium. Duplicates of each petri dish group were incubated at ten different temperatures (between 22.5-45°C). The growing colonies were purified by several methods (direct isolation, dilution-plate etc.) as they are described by Raper & Fennell (1965), Booth (1971), Waterhouse (1971) and Charpentié & Marakis (1980).

The pure fungal isolates were preserved by lyophilization (Marakis, 1980). These fungi were identified according to the classification tables by Raper & Thom (1949), Barnett (1955), Raper & Fennell (1965), Ainsworth et al. (1973), von Arx (1981). In some cases more specialized monographs or descriptions of fungal species were used. No attempt was made to determine relative frequency of occurrence of any fungal species in a leaf sample.

Batch cultivation

1. Fungal growth in medium B: the fungi were grown in 300ml Erlenmeyer flasks containing 50ml of medium B. These flasks were inoculated with 10^6 spores/ml of medium and incubated on reciprocal shaker (120 strokes per min) for 96 h at optimum temperature for each fungal species. The biomass was harvested by method of Marakis (1985). Each of the above experiments was run in triplicate (3 flasks per run). The results were presented as mean values ± standard error.

2. Enzyme production: the culture conditions for cellulase production in medium C were the same as those above mentioned with an incubation time extension to 5 days. For tannase production, the fungi were cultured in medium D under conditions which have been described by Yamada et al. (1968). The enzyme tests were made in triplicate at least on two different occasions.

All isolations belonging to the same fungal species were examined in order to reveal any strain relative to biomass production and enzyme activities.

Analytical methods

- Water soluble total sugars in leaf extracts were determined by the method of Dubois et al (1956) after tannin removal according to the *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC, 1970) method.

- Total nitrogen (TN) was estimated by the method of Varley (1966).

- Protein nitrogen (PN) was calculated by comparing non protein nitrogen (NPN), to TN. For the calculation of NPN, hexosamines and nucleic acids were assumed to contain 7.8 and 15% N, respectively (Smith et al., 1975).

- Hexosamines were determined by the method of Rondle & Morgan (1955).

- Nucleic acids were extracted by the method of Delaney et al. (1975). RNA was estimated by the method of Gottlieb & Van Etten (1964) and DNA by the diphenylamine method (Dische, 1955) using baker's yeast RNA and calf thymus DNA as standards.

- Tannins were determined according to Marakis (1985).

- Cellulose was estimated by the method of Updegraff (1969).

Enzyme assays

- Filter paper (F.P.) cellulase activity was determined by the Peitersen (1975) method. One filter paper unit ($U.ml^{-1}$) corresponds to 1 mg/ml/h glucose.

- Tannase activity was determined by Yamada et al. (1968) method.

RESULTS AND DISCUSSION

Composition of leaves

The results (composition of young and mature leaves presented in Table I reveal that:

Shrubs	*O. europaea*		*C. siliqua*		*P. lentiscus*		*Q. coccifera*	
	young	mature	young	mature	young	mature	young	mature
Total nitrogen	2.6	2.0	2.5	1.8	2.8	0.9	2.5	0.8
Protein nitrogen	1.9	1.5	1.7	1.0	1.9	0.3	1.8	0.2
Water soluble sugars	2.1	3.6	1.8	3.8	1.6	3.5	1.7	3.5
Cellulose	18.9	32.4	17.8	30.1	15.3	28.4	17.3	39.2
Total tannins	5.7	3.0	16.2	8.1	17.1	8.8	19.3	11.1
TPT fraction	0.2	0.01	4.8	1.0	7.3	1.2	8.6	2.1

Table I. - Composition (% on dry weight) in nitrogen, water soluble sugars, cellulose and tannins of young and mature leaves of *O. europaea* var. *silvestris, C. siliqua, P. lentiscus* and *Q. coccifera*.

Tableau I. - Composition (% sur poids sec) en azote, sucres solubles dans l'eau , cellulose et tanins des feuilles jeunes et âgées d' *O. europaea* var. *silvestris, C. siliqua, P. lentiscus* et *Q. coccifera*.

1) The nitrogen percentage generally decreases with the development of the leaves. This is in agreement with the data reported by Diamantoglou & Kull (1988). The nitrogen content is similar between the young leaves of all four shrubs examined, while the total nitrogen content of the mature leaves in *O. europaea* and *C. siliqua* was about twofold of that in *P. lentiscus* and *Q. coccifera*.

2) Significant variations in the water soluble sugar content either between young leaves or the mature ones were not observed. The soluble sugar percentage of the mature leaves was about twofold of that of the young leaves. Diamantoglou & Meletiou-Christou (1980) indicated that the soluble sugars in mature leaves were higher than those of young leaves in *Pistacia vera* and *P. terebinthus*.

3) The cellulose content was found higher than 69-127% in mature leaves compared to that of young leaves. This difference was as expected. The higher cellulose percentage (39.2%) was observed in mature leaves of *Q. coccifera*, while the lower one (28.4%) was in *P. lentiscus* mature leaves. This is in agreement with the raw fibre contents reported by Diamantoglou & Kull (1988) for the mature leaves of the above shrubs.

4) The leaves of *Q. coccifera, P. lentiscus* and *C. siliqua* contain about threefold total tannins compared to those of *O. europaea* leaves. The percentage of total tannins was 74-100% higher in the young leaves than in the mature ones. But, if the tannin content is calculated on fresh weight of leaves, the above difference of the tannin percentage between young and mature leaves is significantly lower (20-50%). The TPT fraction, which possibly consists of condensed tannin precursors, was ranged between 3.5-45% (on

total tannins) in young leaves and 0.3-19% in mature leaves. This tannin fraction is significantly lower in *O. europaea* leaves compared to that of the other examined shrubs. This is in accordance with the results reported by Christodoulakis (1984) with the exception of *O. europaea* leaves where the histochemical reactions he employed were negative. The higher concentrations of tannins in the young leaves are possibly an additional protection for these leaves at a stage of their life when they have not yet been hardened. This protection is effective not only against drought but also against herbivores. However, the presence of tannins in the leaf epidermis of most of the evergreen sclerophyllous species (Mitrakos & Christodoulakis, 1981) indicates the role of tannins which seems to be equally significant for the mature leaves. The development of other protective mechanisms (hairs, spiny margins, etc.) possibly decrease the importance of the tannins in the mature leaves.

Fungal species

Table II presents the fungi isolated from young, mature and fallen leaves of some evergreen sclerophyllous shrubs. Some of these (*Colletotrichum gloeosporioides, Phomopsis oblonga, Epicoccum nigrum, Trichoderma roseum, Alternaria alternata*, etc.) were isolated from the examined shrubs for the first time in Greece. Many species occurred on more than one shrub species, while others were isolated from only a single species. The fungal species isolated from the young leaves of a certain shrub, most of the time occurred on the mature and fallen leaves of the same shrub species. The fungal species, we isolated from mature leaves were about 2-4 times greater in number than the ones isolated from young leaves. This is due perhaps to the short period of time of the existence of young leaves or to their higher TPT fraction content, which may affect the growth of the isolated fungi in different ways related to the concentration of this particular tannin fraction in the leaves (see Tab. III). Many of fungi isolated during this study have been previously reported from the examined shrub species (Maire & Politis, 1940; Pantidou, 1973; Charpentié & Marakis, 1980; Moreira, 1987).

Alternaria alternata was isolated from all categories of examined leaves. It would be expected, because this microorganism is a cosmopolitan saprophytic colonist of plant surfaces (decaying leaves, fruits, etc.). The species *Aspergillus carbonarius* and *Penicillium glabrum* occurring on the leaves of tannin rich shrubs, have been isolated from carob beans (Charpentié & Marakis, 1980). *Trichoderma harzianum* often occurred in warm districts, while *T. viride* was isolated from cool regions. On leaves, where *Trichoderma* species were isolated, less isolates of other species were recorded. This is possibly due to *Trichoderma*, which, as fast-growing microorganisms, use the nonstructural carbohydrates in a fast way; or fungi may secrete inhibitors, antagonistic for other fungal species. *C. gloeosporioides* was isolated from dark brown lesions on the carob leaves. This fungus would be considered as a part of the surface fungal flora (mainly leaf-inhabiting fungus) of *C. siliqua* because it is presented on the premature, mature and fallen leaves. *P. oblonga* possibly sporulates as a saprobe in dead host materials and then infects young and mature leaves. Most infections of *Taphrina caerulescens* occurred

Shrubs	*C. europaea*	*C. siliqua*	*Q. coccifera*	*P. lentiscus*
Young leaves	*Alternaria alternata* (Fr.) Keis. *Aspergillus niger* Van Tiegh. *Fusarium moniliforme* Sheld. *Mucor racemosus* Fres. *Penicillium notatum* West. *Phyllosticta oleae* Pet. *Rhizopus stolonifer* (Eh. ex Fr.) V. *Trichothecium roseum* Link	*A. alternata* *Aspergillus carbonarius* Bain. *Mucor genevensis** Lendner *Penicillium glabrum* (Weh.) West. *Phomopsis oblonga* Desm.	*A. alternanu* *A. carbonarius* *P. glabrum* *Taphrina caerulescens** Tul.	*A. alternata* *A. carbonarius* *P. glabrum*
Mature leaves (1)	*Aspergillus flavus* Link *Aspergillus fumigatus** Fr. *Capnodium oleae** Arn. *Cladosporium herbarum* Link ex Fr. *Cycloconium oleaginum* Cast. *Penicillium cyclopium* West. *Phoma herbarum* Westend *Trichoderma viride* Per. ex Fr. *Phytophthora megasperma* Drech.	*A. niger* *Cladosporium cladosporioides* (Fr.) de Vr. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Diplodia ceratoniae* Politis *Epicoccum nigrum* Link *R. stolonifer* *Septoria* sp.* *Trichoderma harzianum* Rif. ag. *T. roseum*	*A. niger* *C. cladosporioides* *Coccomyces tentatus* Kun. & Sch. *Coniothyrium quercinum* Politis *Acremonium strictum* W. Gams *T. harzianum*	*A. niger* *Capnodium lentisci* Pass. *C. cladosporioides* *M. genevensis* *Phoma lentisci* Pass. *P. oblonga* *R. stolonifer* *Septoria pistaciae** Desm. *T. harzianum*
Fallen leaves (2)	*Coleophoma* sp. *Penicillium funiculosum* Thom	*Aspergillus terreus* Thom *Mucor mucedo* Fr.	*R. stolonifer* *T. viride*	*Aposphaeria lentisci* (Dur. & Mont.) Pat. *Paecilomyces variotii* Bain.

Table II - Fungi isolated from young, mature and fallen leaves of *O. europaea* var. *silvestris*, *C. siliqua*, *Q. coccifera* and *P. lentiscus*.

Tableau II - Champignons isolés des feuilles jeunes, âgées et tombées d'*O. europaea* var. *silvestris*, *C. siliqua*, *Q. coccifera* et *P. lentiscus*.

(1) In addition to the fungi mentioned above, excluding those with asterisk (*), the following species were also isolated.
(2) In addition to the fungi isolated from mature leaves, excluding those with asterisk (*), the following species were also isolated.

Examined parameters / Fungi	Biomass dry weight (mg/flask)	Tannase total units ($x10^3$)	F.P. cellulase ($U.ml^{-1}$)
Acremonium strictum	16.0±0.9	10.8	0.8
Alternaria alternata (O.e.)	5.3±0.5	0.9	NP
Alternaria alternata (C.s.)	75.0±1.2	25.6	0.4
Alternaria alternata	105.1±2.2	40.2	1.7
Aposphaeria lentisci	NG	NP	0.9
Aspergillus carbonarius	136.1±2.6	175.3	1.1
Aspergillus flavus	45.0±1.6	35.4	NP
Aspergillus fumigatus	NG	NP	0.4
Aspergillus niger (O.e.)	5.1±0.8	0.6	NP
Aspergillus niger	37.1± 2.1	16.1	0.7
Aspergillus terreus	5.5±1.0	0.8	1.8
Capnodium lentisci	NG	NP	NP
Capnodium oleae	NG	NP	NP
Coccomyces tentatus	17.2±1.6	12.1	2.1
Cladosporium herbarum	NG	0.2	0.7
Cladosporium cladosporioides	15.3±0.8	7.9	NP
Colletotrichum gloeosporioides	27.5±1.4	14.2	NP
Coleophoma sp.	NG	NP	0.8
Coniothyrium quercinum	25.6±2.1	13.3	2.2
Cycloconium oleaginum	2.8±0.6	0.3	NP
Diplodia ceratoniae	9.4±1.1	5.1	NP
Epicoccum nigrum	7.2± 0.6	2.1	0.4
Fusarium moniliforme	NG	NP	1.9
Mucor genevensis	75.4±1.9	41.2	NP
Mucor mucedo	18.1±1.2	9.3	2.0
Mucor racemosus	6.2±0.8	0.4	NP
Paecilomyces variotii	20.6±1.7	10.1	1.8
Penicillium cyclopium	4.5±0.9	0.7	NP
Penicillium frequentans	98.6±1.8	135.1	2.2
Penicillium funiculosum	NG	0.3	1.3
Penicillium notatum	5.8±1.1	0.9	NP
Phoma herbarum	3.0±0.7	0.4	0.6
Phoma lentisci	7.9±1.0	4.5	NP
Phomopsis oblonga	80.0±1.5	65.7	2.1
Phyllosticta oleae	3.2±0.7	0.2	NP
Phytophthora megasperma	NG	NP	1.2
Rhizopus nigricans	9.2±1.3	4.3	0.9
Septoria sp.	3.6±0.8	0.3	NP
Septoria pistaciae	6.2±1.0	1.7	NP
Taphrina caerulescens	76.1±1.2	45.3	2.3
Trichoderma harzianum	32.2±1.4	16.1	3.2
Trichoderma viride	NG	NP	3.7
Trichoderma roseum	NG	NP	NP

O.e., C.s. = fungi isolated from *O. europaea* and *C. siliqua* leaves respectively, NG = no growth, NP = microorganisms did not present enzyme activity.

Table III - Biomass dry weight of the isolated fungi cultured in medium B for 96h, and their enzyme activity (tannase and F.P. cellulase).

Tableau III - Poids sec de biomasse des champignons isolés cultivés en milieu B pendant 96h, et activités de leurs enzymes (tannase et P.F. cellulase).

on leaves after emergence from buds. Thus, the presence of this microorganism on young leaves may be justified due to the fact that undifferentiated tissues are more susceptible.

Fungal growth and enzyme activities

Table III shows the fungal growth in medium B and the tannase and filter paper (F.P.) cellulase activities of the isolated fungi. The species, isolated from young leaves of tannin rich shrubs (*C. siliqua*, *Q. coccifera*, *P. lentiscus*), presented the greater biomass production (75-136 mg/flasks), while those isolated from *O. europaea* leaves or from some leaf samples of other examined shrubs failed to grow or usually presented a much lower growth (> 10mg/flask). However, the fungal species: *Cladosporium cladosporioides*, *Acremonium strictum*, *Coccomyces tentatus*, *Mucor mucedo*, *Paecilomyces variotii*, *Coniothyrium quercinum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* and *A. flavus* isolated from mature and fallen leaves presented a noticeable biomass ranging between 15-45 mg/flask. Several plant pathogen species, mainly those isolated from *Q. coccifera*, presented higher than 15mg of dry biomass per flask. The fungi grown in medium B might possess an enzyme system for degradation and utilization of the TPT fraction. This tannin fraction did not favor the growth of isolated fungi from leaves with poor TPT content. This is possibly due to the different adaptation of the isolated fungi from leaves containing various concentrations of TPT fraction. An increase of incubation time for all cultures did not change the results. The chemical analysis of the TPT fraction may possibly elucidate the way in which this tannin fraction is assimilated by the isolated fungi.

The isolations from different leaf categories belonging to the same fungal species presented similar growth and enzyme activity except the isolates of *Alternaria alternata* and *Aspergillus niger*. This study revealed three strains of *A. alternata* and two of *A. niger*. The strains of these fungal species isolated from *O. europaea* leaves presented much lower values of the examined parameters compared to those of the strains isolated from leaves of tannin rich shrubs.

The tannase activity depended on the fungi species and the leaves where fungi were isolated from. The differences of tannase activity between fungal species presented similar variations to those of the biomass growth. So, fungal species produced high biomass growth showed high tannase activity. *A. carbonarius* and *P. glabrum* presented the higher tannase values, 175.3 and 135.1 total units (x 10^3), respectively. The plant pathogen species *P. oblonga* and *T. caerulescens* presented high tannase activity as well. It is noticeable that fungi isolated from *Q. coccifera* leaves presented higher tannase activity. This is possibly due to the fact that *Q. coccifera* leaves are richer in tannins than those of other examined shrubs. Tannase activities higher than 20 total units(x 10^3) of some microfungi is in accordance with the tanninolytic ability of fungi belonging to the same species isolated from carob bean (Marakis, 1980). The tannase activity [45 total units (x 10^3)] of *A. flavus* is lower than that reported by Yamada et al. (1968) for a strain of this fungal species.

Twenty four fungal species, 60% of those isolated, presented cellulase activity. All fungi isolated from fallen drying and decaying leaves showed considerable cellulolytic activity. *Trichoderma* presented the higher values (3.2-3.7 U.ml^{-1}) of F.P. cellulase. This should be expected, because these fungal species are considered to be among the cellulolytic microorganisms. In preliminary experiments these fungi presented a low ligninolytic activity. Thereafter, it is someway enigmatic that in spite of the considerable cellulolytic activity of *Trichoderma* species their ability to degrade lignin is weak. These species although can utilize a diverse range of substrates, *T. viride* cannot grow in medium B. The saprophytes generally presented a higher cellulase activity, but some plant pathogens (*C. tentatus, C. quercinum, P. oblonga* and *T. caerulescens*) showed a noticeable cellulolytic activity ($>$2 U.ml^{-1}) as well. These pathogens fungi presented a high tannase activity. A research on the relationship between tannin-lignocellulolytic ability and pathogenicity of these fungal species is useful to be undertaken.

CONCLUSION

The isolated fungal species generally presented an adaptation to their environment. So, fungi isolated from leaves of tannin rich shrubs showed higher tannase activity than that of the fungal species isolated from other leaf categories examined. The smaller number of fungal species occurred on the tannin rich leaves. This is perhaps due to the inhibitory effects that tannins have on microbial growth.

REFERENCES

AINSWORTH G.C., SPARROW F.K. and SUSSMAN A.S., 1973 - A taxonomic review with keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti. *In:* AINSWORTH G.C., SPARROW F.K. & SUSSMAN A.S., *The fungi* Vol. IV A. New York and London, Academic Press.

A.O.A.C., 1970 - *Official methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists.* 11th ed., Washington, Horwitz W. Ed.

ARX J.A. von, 1981 - *The genera of fungi sporulating in pure culture.* Vaduz, J. Cramer.

BARNETT H.L., 1955 - *Illustrated genera of imperfect fungi.* Minneapolis, Burgess Publishing Co.

BOOTH C., 1971 - Introduction to general methods, fungal culture media. *In:* BOOTH C., *The methods in Microbiology.* London & New York, Academic Press, Vol. 4: 1-94.

BURNS R.G. and SLATER J.H., 1982 - Procedures for the isolation, cultivation and identification of fungi. *In:* BURNS R.G. & SLATER J.H., *Experimental Microbial Ecology.* London, Blackwell Sci. Publ.: 22-30.

CHARPENTIÉ M.J. et MARAKIS S., 1980 - La mycoflore des caroubes. *Cryptogamie, Mycol.* 1: 165-174.

CHRISTODOULAKIS N., 1984 - "A structural analysis of sclerophylly in evergreen species of "Maquis" vegetation". Ph. D. Thesis, Univ. of Athens (in greek).

DELANEY R.A.M., KENNEDY R. and WALLEY B.D., 1975 - Composition of *Saccharomyces fragilis* biomass grown on lactose permeate. *J. Sci. Food Agric.* 26: 1177-1186.

DEMETRIADES S.D., ZACHOS D.G., CONSTANTINOU P. Th., PANAGOPOULOS C.G. et HOLEVAS C.D., 1959 - Rapport sommaire sur les principales maladies des plantes cultivées, observées en Grèce au cours de l'année 1958. *Ann. Inst. Phytopathol. Benaki*, n.s., 2: 3-11.

DIAMANTOGLOU S. und MELETIOU-CHRISTOU M.S., 1980 - Kohlenhydratgehalte und osmotiche Verhältnisse bei Blättern und Rinden von *Pistachia lentiscus, Pistacia terebinthus* und *Pistacia vera* im jahresgang. *Flora* 169: 163-176.

DIAMANTOGLOU S. und KÜLL U., 1988 - Der Stickstoffhaushalt immergrüner mediterraner Hartlaubblätter. *Flora* 180: 377-390.

DISCHE Z., 1955 - Color reaction of nucleic acid components. *In:* CHARGAFF E. & DAVIDSON J.N., *The nucleic acids.* New York, Academic Press: 295-305.

DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A. and SMITH F., 1956 - Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chem.* 28: 350-356.

GOTTLIEB D. and VAN ETTEN J.L., 1964 - Biochemical changes during the growth of fungi. I. Nitrogen compounds and carbohydrate changes in *Penicillium atrovenetum. J. Bacteriol.* 88: 114-121.

GRANITI A., 1958 - Appunti serlla "nebbia" del carrubo in Sicilia. *Ann. Canad. Sci. For.* 7: 309-328.

MAIRE R. and POLITIS J., 1940 - Fungi Hellenici. Actes de l'Institut Botanique de l'Université d'Athènes, 1: 27-179.

MARAKIS S., 1980 - "New fungal strains for microbial protein production from carob beans". Ph. D. Thesis, Univ. of Athens (in greek).

MARAKIS S., 1985 - Screening tannin-utilizing filamentous fungi for protein production from aqueous carob extract. *Cryptogamie, Mycol.* 6: 293-308.

MARAKIS S., KALAITZAKIS J. and MITRAKOS K., 1987 - Criteria for recognizing carob tree varieties. *In:* FITO P. & MULET A., Proc. IInd Int. Carob Symp. (Spain, Valencia, 29 Sept. - 1oct.): 195-208.

MARTELLI G.P., 1961 - L'anthracnose del Carrubo. *Phytopathol. Medit.* (I) 3: 138.

MILLER J.H., GIDDENS J.E. and FOSTER A.A., 1957 - A survey of the fungi of forest and cultivated soils of Georgia. *Mycologia* 49: 779-808.

MITRAKOS K. and CHRISTODOULAKIS N., 1981 - Leaf structural diversity in Mediterranean evergreen sclerophylls. *In:* MARGARIS N.S. & MOONEY H.A., *Components of Productivity of Mediterranean-climate Regions - Basic and Applied Aspects.* Hague, Boston, London, Dr. W. Junk Publ.: 21-25.

MOREIRA A., 1987 - Some fungi on *Ceratonia siliqua* L. in Portugal. *In:* Proc. IInd Int. Carob Symp. (Spain, Valencia, 29 Sept. - 1 Oct.).

PANTIDOU M.E., 1973 - Fungus-host index for Greece. Benaki Phytopathological Institute, Athens.

PEITERSEN N., 1975 - Production of cellulase and protein from barley straw by *Trichoderma viride. Biotechnol. Bioeng.* 17: 361-374.

RAPER K.B. and THOM C., 1949 - *A manual of the Penicillia.* London, Baillière, Tindall & Cox.

RAPER K.B. and FENNELL D.I., 1965 - *The genus Aspergillus.* Baltimore, Williams et Wilkins Co.

RONDLE C.J.M. and MORGAN W.T.J., 1955 - The determination of glucosamine and galactosamine. *Biochem. J.* 61: 586-589.

SACCARDO P.A., 1898 - *Sylloge Fungorum* 13: 292.

SMITH R.H., PALMER R. and READE A.E., 1975 - A chemical and biological assessment of *Aspergillus oryzae* and other filamentous fungi as protein sources for simple stomached animals. *J. Sci. Food Agric.* 26: 785-795.

UPDEGRAFF D.M., 1969 - Semi-micro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochem.* 32: 420-424.

VARLEY J.A., 1966 - Automatic methods for the determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material. *The Analyst* 91: 119-126.

WATERHOUSE G.M., 1971 - Phycomycetes. *In:* BOOTH C., *The methods in Microbiology.* London & New York, Academic Press, Vol. 4: 183-192.

YAMADA H., ADACHI O., WATANABE M. and SATO N., 1968 - Studies on fungal tannase. Part I. Formation, purification and catalytic properties of tannase of *Aspergillus flavus. Agric. Biol. Chem.* 32: 1070-1078.

ASPECTS MÉTABOLIQUES DE LA FRUCTIFICATION D'*AGARICUS BISPORUS* (LANGE) IMBACH

Valérie FORET

Laboratoire de Mycochimie - Institut de Chimie et
de Biologie Cellulaire et Moléculaire - Université
Claude Bernard, 69622 Villeurbanne Cedex.

RÉSUMÉ - Les modalités de la fructification du champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach sont encore mal connues en dépit des nombreux articles publiés sur le sujet. Cependant, un travail important a déjà été réalisé sur certains aspects métaboliques de la fructification de cette espèce, dont la revue bibliographique qui suit donne une synthèse. Après une analyse détaillée de la composition chimique du carpophore, les modifications biochimiques associées, d'une part, au développement du carpophore et d'autre part, au cycle de fructification - phénomène des volées - sont passées en revue, avec une attention plus particulière envers les hydrates de carbone non structuraux (mannitol, tréhalose et glycogène) et les métabolites azotés solubles (urée, acides aminés libres et composés affines) et non solubles (protéines, chitine et acides nucléiques). Le rôle du métabolisme des hydrates de carbone dans le déterminisme des volées est également considéré, à la lumière de récentes découvertes.

ABSTRACT - The modalities of fruiting of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach are still unknown despite the numerous papers referring to them. However, much work has already been done on some metabolic aspects of the fruiting of this species of which the following bibliographic review gives a synthesis. After a detailed analysis of the sporophore chemical composition, the biochemical changes related on one hand to the fruitbody development and, on the other hand, to the fruiting cycle - flushing - are reviewed with particular attention drawn to non-structural carbohydrates (mannitol, trehalose and glycogen) and soluble- (urea, free amino acids and related compounds) and non-soluble (proteins, chitin and nucleic acids) nitrogen compounds. The role of carbohydrates metabolism in the determinism of flushes is also considered in the light of recent discoveries.

MOTS CLÉS : *Agaricus bisporus*, revue bibliographique, fructification, carpophore, biochimie, volée, hydrates de carbone non structuraux, métabolites azotés.

INTRODUCTION

Le champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach a fait et continue de faire l'objet de nombreux travaux scientifiques en raison de son importance économique d'une part, et des modalités particulières de sa fructification d'autre part. En effet, certains aspects de la biologie de ce

champignon ne sont pas complètement élucidés: on ne connaît pas, par exemple, la nature exacte des facteurs qui contrôlent l'initiation des carpophores (fructifications); il en est de même pour les facteurs gouvernant le processus de fructification rythmée du champignon (phénomène des volées).

Les nombreuses recherches fondamentales menées dans cette voie (Hayes & Nair, 1975; Elliott, 1985 a, b; Flegg & Wood, 1985; Gaze, 1985) ont donné la preuve que l'on ne peut dissocier les différentes étapes de la physiologie du champignon (fructification en particulier) des modifications biochimiques, ou d'un point de vue général, métaboliques, subies par celui-ci.

Ainsi, une meilleure connaissance du métabolisme de la fructification d'*Agaricus bisporus* a été acquise au cours des vingt dernières années, dont nous proposons la synthèse dans la revue bibliographique qui suit.

COMPOSITION CHIMIQUE DU CARPOPHORE

1- Analyse sommaire

La composition chimique du champignon de couche fait régulièrement l'objet de publications scientifiques pour deux raisons majeures:

- une connaissance approfondie de la valeur nutritive du champignon s'avère nécessaire étant donné l'importance croissante de celui-ci dans l'alimentation humaine,

- la composition chimique du champignon est difficile à évaluer à cause de sa grande variabilité, due à des facteurs extrinsèques (composition du substrat de croissance, méthode de culture, imprécision relative des méthodes d'analyse...) et intrinsèques (caractères génétiques de la souche utilisée, stade de développement et partie du carpophore considérés, phase du cycle de récolte...).

Dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*, la matière sèche ne représente pondéralement que 10 % environ de la matière fraîche (Tab.I); elle est constituée à près de 80 % de protéines *s.l.* et d'hydrates de carbone (glucides); les lipides y sont en nette minorité.

La disparité des valeurs du taux de protéines entre les différentes publications reflète, dans une large mesure, le manque de précision des méthodes de dosage usuelles. La conversion du taux d'azote total par un facteur de 6,25 donne, selon Hayes & Haddad (1976), une mauvaise estimation du taux réel de protéines du champignon cultivé, pour deux raisons:

- les protéines brutes de l'Agaric, après purification, renfermeraient moins de 16 % d'azote (11,79 % d'après Fitzpatrick et al., 1946),

- les composés azotés non protéiques (chitine principalement) représentent une part non négligeable de l'azote total.

TABLEAU I - COMPOSITION CHIMIQUE MOYENNE DU CARPOPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)
TABLE I - AVERAGE COMPOSITION OF THE SPOROPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)

REFERENCES	MATIERE SECHE	PROTIDES		GLUCIDES		LIPIDES		CENDRES		AZOTE TOTAL
	% M.F	% M.F.	% M.S.	% M.F.	% M.S.	% M.F.	% M.S.	% M.F.	% M.S.	% M.S.
Anderson & Fellers (1942)	10,5	3,94	37,5	5,09	46,5	0,19	1,81	1,26	12,0	-
Maggioni et al. (1968)	9,5 - 12 (a)	-	-	-	-	-	1,66 2,20	-	-	6,29 - 7,95
Diem & Lentner (1970)	9,2	2,80 (b)	30,4	4,60	50,0	0,24	2,61	-	-	-
Hayes & Haddad (1976)	9,0	3,50 - 3,15 (c)	38,9 - 35,0 (c)	3,45	38,3	0,40	4,44	0,90	10,0	-
Bakowski et al. (1986 b)	7,4 - 9,3 (d)	-	19,4 - 31,3 (d)	-	-	-	-	-	-	4,44 - 7,15
Kreß (1986)	8,4 - 15,7	2,21 à 3,67	-	-	-	0,23	2,72	-	-	-
Abou-Heilah et al. (1987)	9.8	5,05 (e)	51.6 (e)	1,13	11,6	0,17	1,75	-	-	6,11
Van der Meer (1987)	9,3	[illegible]	29,0	3,95	42,5	0,24	2,58	-	-	-

Notes :
(a) Variation en fonction des volées et de la source azotée ajoutée au compost.
(b) Valeur obtenue par le produit (N) X 4,17.
(c) Valeur supérieure obtenue par le produit (N) X 6,25; valeur inférieure obtenue par le dosage des acides aminés totaux.
(d) Variation en fonction de la souche mycélienne et de l'âge des carpophores; teneurs protéiques obtenues par le produit (N) X 4,38.
(e) Valeur obtenue par le produit (N) X 8,48.

Ou bien l'on tient compte uniquement, comme Abou-Heilah et al. (1987), du taux d'azote réel des protéines du champignon, et dans ce cas, le facteur de conversion à utiliser devient 8,48 (= 100/11,79). Ou bien l'on considère, comme Diem & Lentner (1970) et Kreß (1986), que l'azote sous forme de protéines représente 2/3 de l'azote total, et dans ce cas, le facteur de conversion devient 4,17 (= 2/3 x 6,25).

L'étude comparative réalisée par Weaver et al. (1977), tendrait à prouver que la méthode la plus fiable pour estimer le taux de protéines réel du

[redacted] II - COMPOSITION CHIMIQUE DETAILLEE DU CARPOPHORE (AGARICUS BISPORUS)
TABLE II - [redacted] COMPOSITION OF THE SPOROPHORE [redacted]

[redacted] TOTAUX (50 %)	[redacted] (40 %)	[redacted] (1 - 3 %)	CENDRES (= FRACTION [redacted] (10 %)
* Polysaccharides (25 %) • Glycanes totaux (4,6 %) [28] dont glycogène (3,5 %) • Hémicelluloses (6,18 %) [31] * Fibres (10 %) • Chitine [32] • Chitosan * Polyols (= alcools-sucres) • Mannitol (10 - 50 %) [16-34] • Inositol [17-20] * Mono- et disaccharides (5%) [4-5-14-18-31-31] • Hexoses (glucose, galactose, fructose, mannose) • Pentoses (xylose, ribose, rhamnose, fucose) • Hexosamines (glucosamine, N - acétyl-glucosamine) • Acides uroniques (acides galacturonique et glucuronique) • Saccharose • Tréhalose (jusqu'à 20 %) [14]	* Protéines réelles (30 %) [7-25-41] * Composés azotés [redacted] (5 - 10 %) • Urée (0,5 - 1 %) [13-22-37] • Acides aminés libres et apparentés (agaritine, GHB ...) [1-2-21-27-30-36] • Ions ammonium, nitrate, nitrite [3-4-23] • Bases azotées libres, nucléosides, nucléotides libres [17-26-33] * Acides nucléiques (2 - 3 %) [27] • ADN (0,17 %) • ARN (2,49 %)	* Alcanes [24] • Octadécane (C18) • Nonadécane (C19) • Eicosane (C20) * Hydrocarbures aliphatiques oxygénés [9-14-27-38] • Octène-1 ol-3, trans-octène-2 ol-1 (composés majeurs de l'arôme [redacted] A. bisporus) • Octanone-3, octanol-1 * Acides gras libres, dont [19-20-30]: • Acide linoléique (majoritaire) • Acide palmitique • Acide stéarique * Glycérides (mono-, di- et tri-) [29] * Stérols et stéroïdes, dont [12-39] : • Ergostérol • Lanostérol + dérivé [redacted] lanostérol • Epistérol * Glycolipides, dont : • Sphingolipides [11-12] • Sucres acétylés [8] * Phospholipides, dont [8-29] : • Phosphatidylcholine (= lécithine) • Phosphatidyléthanolamine • Phosphatidylsérine • Phosphatidylinositol	* Principaux éléments : • Potassium (1 - 6 %) [4-9-25-30-39-40] • Phosphore (0,5 - 1,3 %) [4-9-25-30-39-40] • Manganèse (0,001 - 1 %) [4-9-39-40] • Sodium (0,05 - 0,8 %) [9-25-30-39] • Soufre (0,1 - 0,5 %) [4-9-40] • Calcium (0,02 - 0,2 %) [4-9-25-30-39-40] • Magnésium (0,08 - 0,1 %) [4-9-39-40] • Fer (0,002 - 0,03 %) [4-9-25-30-39-40] • Cuivre (0,003 - 0,02 %) [4-9-39-40] • Zinc (0,004 - 0,009 %) [4-39-40] * A l'état de traces : [7-9-39-40] • Al, Ag, B, Cl, Cr, I, Ni, Rb, Se. * Et éventuellement : [10-40] • Cd, Co, Hg, Pb.

Entre parenthèses : teneurs en pourcentage [redacted] poids de matière sèche.

Références bibliographiques :

1- Abou-Heilah et al., 1987.
2- Altamura et al., 1967.
3- Bakowski & Kosson, 1965.
4- Bakowski et al., 1986 b.
5- Bakowski et al., 1986 c.
6- Byrne & Brennan, 1975.
7- Byrne et al., 1979.
8- Cronin & Ward, 1971.
9- Diem & Lentner, 1970.
10- Enke et al., 1979.
11- Fujii et al., 1982.
12- Goulston [redacted] al., 1975.
13- Griffin et al., 1970.
14- Grove, 1981.
15- Hammond, 1979 ab
16- [redacted] & Nichols, 1979.
17- Hashida et al., 1964.
18- Holtz, 1971.
19- Holtz & Schisler, 1971.
20- Hughes, 1962.
21- Hughes et al., 1958.
22- Iwanoff, 1925.
23- Kissmeyer-Nielsen et al., 1966.
24- Kostelc [redacted] Hendry, 1981.
25- Kreß, 1986.
26- Kritskii & Kulaev, 1963.
27- Latché, 1970.
28- [redacted] & Rast, 1978.
29- Li & Chang, [redacted].
30- Maggioni et al., 1968.
31- Mc Connell & Esselen, 1947.
32- Michalenko et al., 1976.
33- Nguyen et al., 1968.
34- Hervaes-Ledieu & Mendoza, 1981.
35- Oka et al., 1973.
36- Oka et al., 1981.
37- Pyysalo, 1976.
38- Pyysalo, 1978.
39- [redacted] Meer, 1987.
40- Varo et al., 1980.
41- Weaver et al., 1977.

champignon de couche, est celle basée sur le dosage des acides aminés constitutifs des protéines (après hydrolyse chimique totale).

2- Analyse détaillée

Le tableau II donne la composition détaillée (mais cependant non exhaustive) des différentes fractions biochimiques du carpophore d'*Agaricus bisporus*.

D'une façon générale, on retrouve chez *A. bisporus* la plupart des composés typiquement fongiques; parmi ceux-ci, la **chitine** et son dérivé désacétylé le **chitosane,** constituants de base de la paroi cellulaire des champignons (et représentants majeurs des fibres), le **mannitol**, le **tréhalose** et le **glycogène,** glucides très largement répandus chez les champignons, l' **urée,** carbamide abondante chez de nombreux Basidiomycètes, l' **ergostérol,** stérol localisé dans les membranes cellulaires et constituant la provitamine D_2; il faut citer également l' **octène-1 ol-3,** composé volatile responsable, pour beaucoup, de l'odeur caractéristique de nombreux champignons - aussi appelé "alcool de champignon".

TABLEAU III - COMPOSITION EN VITAMINES DU CARPOPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)
TABLE III - VITAMIN CONTENT OF THE SPOROPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)

VITAMINES HYDROSOLUBLES (en mg pour 100 g de partie consommable fraîche)									
Références	Thiamine (B1)	Riboflavine (B2)	Panto-thénate (B5)	Pyrido-xine (B6)	Cyano-cobalamine (B12)	Folate (Bc)	Ascor-bate (C)	Biotine (H)	Niacine (B3)
Anderson & Fellers (1942)	0,12	0,52	2,38	-	-	-	8,62	0,006	5,85
Filios & Esselen (1946)	-	0,34-0,35	1,24-2,19	-	-	-	-	0,006	3,46-4,25
Diem & Lentner (1970)	0,10	0,44	2,10	0,05	-	0,03	5,00	0,016	6,20
Hayes & Hand (1981)	-	-	-	-	0,03-0,06	-	-	-	-
Bakowski et al. (1986 b)	-	-	-	-	-	-	4,83-7,28	-	-
Kreß (1986)	0,10	0,45	2,10	-	-	-	4,00	-	4,70
Van der Meer (1987)	0,10	0,44	2,10	-	-	0,025	5,00	0,016	5,20

VITAMINES LIPOSOLUBLES (pour 100 g de partie consommable fraîche) (Van der Meer, 1987)

Vitamine A : 10 µg

Vitamine D : 2 µg

Vitamine E : 0,078 µg

Certains composés sont plus spécifiques du genre *Agaricus* voire de l'espèce *A. bisporus*; il s'agit en général de métabolites secondaires: ce sont, chez *A. bisporus* en particulier, l' **agaritine** ou γ-glutamyl-4 hydroxyméthylphénylhydrazine et le **GHB** ou γ-glutaminyl-4 hydroxybenzène, tous deux dérivés de la voie du shikimate et assimilés à des acides aminés en raison de la présence dans leur structure, d'un résidu d'acide glutamique (Schütte et al., 1972; Stüssi & Rast, 1981).

La fraction minérale se caractérise par la prédominance du **potassium** et du **phosphore** - les teneurs de ces éléments peuvent cependant varier considérablement en fonction de la composition du substrat et de la souche considérée (cf références du tableau). Certains éléments associés à la fonction de diverses enzymes sont présents en quantités non négligeables, en particulier le **manganèse**, le **magnésium**, le **fer**, le **cuivre** et le **zinc**. Les métaux lourds comme le mercure, le cadmium et le plomb, dont la toxicité chronique pour le consommateur ne doit pas être négligée, proviennent le plus souvent d'une contamination du substrat par des pesticides (paille) ou des médicaments vétérinaires (fumier de cheval).

Il faut signaler également la présence de vitamines indispensables dans le métabolisme général du champignon... et celui du consommateur (Tab. III). Parmi les plus abondantes, la **vitamine C** (acide ascorbique), la **vitamine PP** ou **B3** (niacine ou acide nicotinique), la **vitamine B5** (acide pantothénique), la **vitamine B2** (riboflavine). Les vitamines liposolubles **(A, D, E)** contrastent avec les vitamines hydrosolubles par leurs faibles teneurs pondérales: ceci reflète sans doute la faible représentativité de la fraction lipidique - quantitativement parlant - dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*.

MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES LIÉES AU DÉVELOPPEMENT DU CARPOPHORE

1- Cas des glucides non structuraux

Importance quantitative et principaux représentants

La part des glucides non structuraux - glucides ne participant pas à l'édification des structures cellulaires telles que membranes, parois etc... - est quasiment équivalente à celle des glucides structuraux (chitine et autres polysaccharides) dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*: elle représente en moyenne 20 à 25 % du poids de matière sèche du carpophore.

Parmi les glucides non structuraux, quatre composés semblent jouer un rôle prépondérant dans la croissance du carpophore: le **glucose**, le **mannitol**, le **tréhalose** (dimère du glucose, liaison α-1,1) et un glucane soluble assimilé à du **glycogène** (résidus glucose polymérisés en α-1,4 avec des ramifications en α-1,6).

Le mannitol, polyol le plus fréquemment rencontré dans les champignons (Lewis & Smith, 1967) est de loin le plus abondant des quatre composés puisque sa teneur peut s'élever jusqu'à près de 50 % du poids de matière sèche du carpophore (Hammond & Nichols, 1976 a). Le tréhalose et

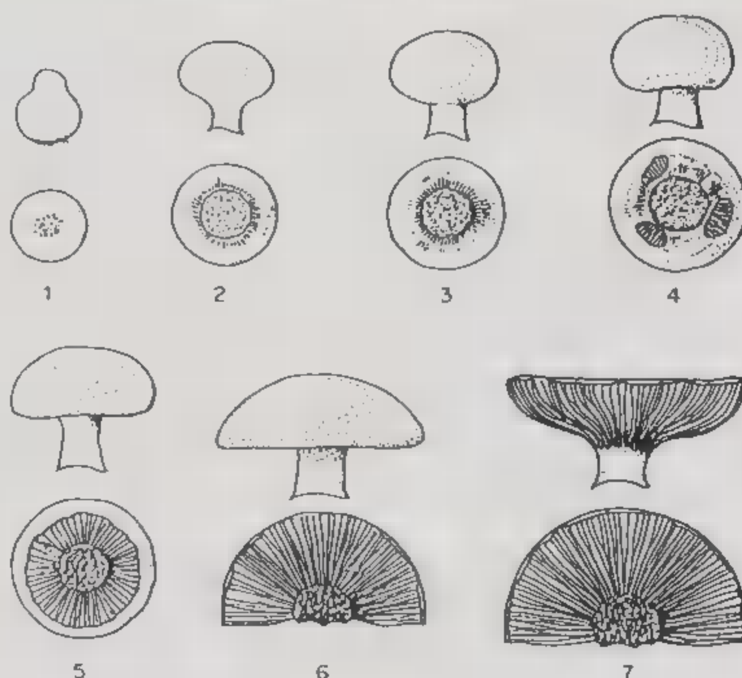


Figure 1 - Aspect des carpophores d'*Agaricus bisporus* aux stades morphogénétiques définis par Hammond & Nichols (1976 a).

Figure 1 - Appearance of *Agaricus bisporus* sporophores at the morphogenetic stages defined by Hammond & Nichols (1976 a).

le glycogène, également présents dans les levures et les spores de nombreux champignons, représentent à eux-deux entre 5 et 10 % du poids de matière sèche dans les carpophores de stade 2 (cf. Fig. 1) récoltés en milieu de volée (Hammond & Nichols, 1979). Quant au glucose, sa teneur n'excède pas 1 % du poids de matière sèche dans le carpophore (Hammond & Nichols, 1976 a).

Répartition spatio-temporelle

La répartition tissulaire des hydrates de carbone solubles diffère d'un composé à l'autre dans le carpophore en développement (Fig. 2). Le glucose et le mannitol s'accumulent principalement dans les parties stériles (stipe et trame du piléus) tandis que le tréhalose et le glycogène sont uniformément distribués dans le carpophore (Hammond & Nichols, 1976 a, b).

Si l'on écarte les valeurs extrêmes du taux de glycogène atteintes par les jeunes carpophores récoltés à l'émergence d'une volée (jusqu'à 20 % du poids de matière sèche, selon Hammond & Nichols, 1979), les teneurs moyennes du polysaccharide passent de 2 - 4 % à 5 - 8 % du poids de matière sèche entre le stade "bouton" et le stade "étalé" (Hammond & Nichols, 1976 b). Le glycogène est aussi présent dans le mycélium à des concentrations voisines de celles des jeunes carpophores (environ 3,5 % du

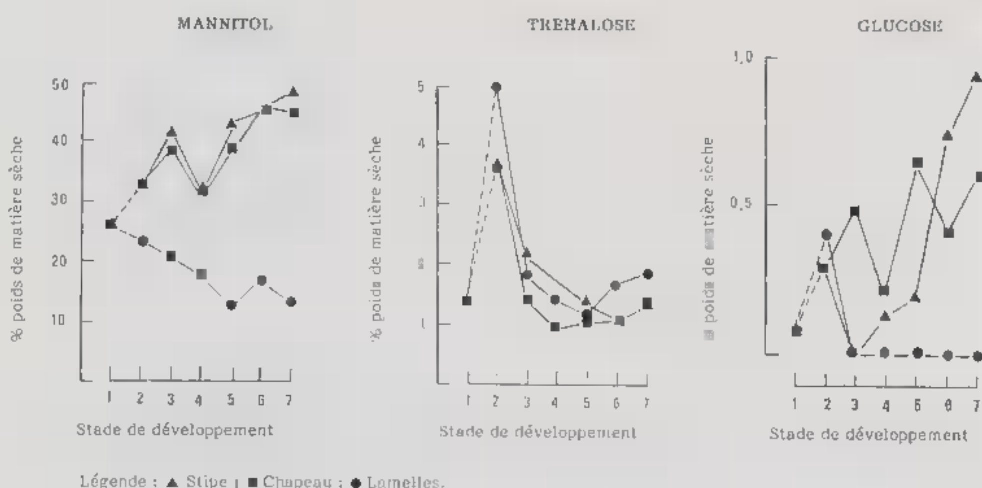


Figure 2 - Evolution du niveau des hydrates de carbone non structuraux au cours du développement du carpophore (d'après Hammond & Nichols, 1976 a).

Figure 2 - Changes in non-structural carbohydrates content during the sporophore development (from Hammond & Nichols, 1976 a).

poids de matière sèche); par ailleurs, il n'a pas été détecté dans les spores (Lendenmann & Rast, 1978).

A l'inverse de celui du glycogène, le taux du tréhalose chute dans le carpophore, en début de croissance, et il semble que cette diminution soit la poursuite d'un processus amorcé pendant la croissance végétative puisque les teneurs maximales du disaccharide ont été enregistrées dans le mycélium au moment du gobetage, soit plus de deux semaines avant l'apparition des premiers carpophores. La répartition homogène du tréhalose entre mycélium et carpophore suggère l'existence d'un processus de translocation du composé dans le champignon (Hammond & Nichols, 1976 a).

En ce qui concerne le mannitol et le glucose, un net antagonisme semble exister entre les lamelles et les parties stériles du carpophore d'une part, et, pour le mannitol seulement, entre le carpophore et le mycélium d'autre part. En effet, tout au long du développement du carpophore, le niveau de ces deux hydrates de carbone diminue dans les lamelles alors qu'il s'élève dans le stipe et la trame du piléus; dans le mycélium, le mannitol reste à des teneurs relativement basses (environ 3 % du poids de matière sèche) tant pendant la croissance végétative que pendant la fructification (Hammond & Nichols, 1976 a).

Rôle physiologique et métabolique

Deux observations ont permis d'établir un parallèle entre l'augmentation de la teneur en mannitol dans le carpophore de *A. bisporus* en croissance et l'augmentation d'activité de la voie des hexoses monophosphates

(voie des HMP) qui fournit le NADPH, cofacteur enzymatique nécessaire à la synthèse du polyol (Ruffner et al., 1978):

* la participation de la voie des HMP dans l'oxydation du glucose devient prédominante sur celle de la glycolyse pendant la croissance du carpophore alors qu'elle est minoritaire pendant la croissance végétative (Le Roux, 1967; Hammond, 1977),

* les lamelles, qui produisent moins de mannitol que le reste du carpophore, montrent une activité plus faible de la voie des HMP que le stipe et la trame du piléus (Le Roux, 1967; Hammond & Nichols, 1976 a).

Ces observations ont conduit à proposer des hypothèses intéressantes quant au rôle du mannitol dans le métabolisme de la fructification du champignon de couche. En effet, on attribue généralement à la voie des HMP, appelée aussi voie des pentoses phosphates, la fonction de produire une réserve de NADPH, indispensable aux réactions de synthèse réductrice (lipogenèse en particulier), ainsi que des pentoses activés, nécessaires à la biosynthèse des acides nucléiques.

S'il n'est pas surprenant, à première vue, qu'en phase de reproduction sexuée, l'activité de la voie des HMP soit accrue dans le champignon - les nombreuses divisions cellulaires de la sporogenèse exigent la réplication de l'ADN et l'élaboration de nouvelles membranes dont les constituants de base sont des lipides - il est en revanche plus étonnant de constater, comme l'ont fait Dütsch & Rast (1972) et plus tard Hammond (1985 a, b) que le niveau de mannitol est corrélé de façon négative avec le rapport quantitatif NADPH / NADPH + NADP appelé charge de réduction anabolique. Selon l'hypothèse des auteurs, il pourrait exister une relation métabolique entre l'activité de la mannitol déshydrogénase, enzyme NADPH-dépendante catalysant la synthèse du polyol (Ruffner et al., 1978) et celle des deux enzymes-clefs de la voie des HMP, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la phosphogluconate déshydrogénase: dans les lamelles, où les dépenses en NADPH sont sans doute plus importantes que dans le reste du carpophore (sporogenèse), la baisse du rapport NADPH / NADPH + NADP entraînerait une diminution de l'activité de la mannitol déshydrogénase d'où la diminution du niveau de mannitol.

D'une façon plus générale, le mannitol, comme de nombreux polyols acycliques végétaux, exercerait un contrôle sur le métabolisme glucidique du champignon (Lewis & Smith, 1967). Il reste cependant à établir la nature et le rôle exacts de la relation métabolique entre la voie des HMP et la synthèse du mannitol dans la fructification du champignon.

En ce qui concerne le rôle physiologique du mannitol, plusieurs auteurs s'accordent pour attribuer au polyol une fonction osmorégulatrice dans les hyphes du carpophore. En effet, Hammond & Nichols (1975) et Hammond (1979 a) ont démontré que le mannitol, une fois synthétisé, n'est métabolisé que dans des conditions "anormales" de croissance ou dans des conditions de survie, par exemple, après la récolte ou pendant la phase de sénescence du carpophore. Dans les conditions habituelles de développement, le champignon ne semble pas utiliser le polyol comme substrat respiratoire ou de

croissance, car le turn-over du composé, dans le mycélium et le carpophore, est très lent. Les différences de concentration observées entre les différentes parties du carpophore ne relèveraient que de variations de la vitesse de synthèse du composé.

Parallèlement à cette apparente inertie métabolique du mannitol, Hammond & Nichols (1976 a) ont constaté que l'augmentation de la concentration du polyol dans le carpophore est moins forte en proportion du poids de matière fraîche qu'en proportion du poids de matière sèche: ceci tendrait à prouver que le mannitol est maintenu à un niveau relativement constant dans l'eau cellulaire grâce à un flux hydrique permanent en direction du carpophore. La haute concentration du mannitol dans les hyphes du carpophore et plus particulièrement celles du stipe et de la trame du piléus qui sont soumises à un allongement rapide, pourrait donc être une réponse adaptative du champignon à l'important stress hydrique qu'il subit pendant sa fructification, comme cela s'observe avec divers polyols chez les végétaux chlorophylliens - algues notamment (Lewis & Smith, 1967).

Le tréhalose et le glycogène quant à eux, semblent avoir des fonctions bien distinctes de celles du mannitol, à savoir celles de matériaux de croissance.

Le tréhalose, dont la répartition tissulaire est quasi-homogène dans les fructifications, serait synthétisé au niveau du mycélium et transporté - par un mécanisme non encore élucidé - vers les carpophores en développement où il constituerait une réserve de substrat hydrocarboné (glucose). La baisse de la concentration du disaccharide observée dans le champignon dès la phase d'induction de la fructification (*i.e.* au gobetage) serait consécutive non pas à un accroissement du catabolisme du composé mais plutôt à une diminution de sa vitesse de synthèse; celle-ci pourrait s'effectuer, selon Hammond & Nichols (1976 a), aux dépens de réserves glucidiques stockées dans le mycélium.

Le glycogène, dont les teneurs dans le mycélium et le carpophore sont semblables, est probablement mobile, tout comme le tréhalose, à l'intérieur du champignon (Hammond, 1979 b). Ce polysaccharide, bien que peu étudié, pourrait participer, comme cela a été montré chez l'Agaric *Flammulina velutipes* (Kitamoto & Gruen, 1976, cités par Manachère, 1988), à la synthèse du tréhalose et du mannitol.

Nous verrons plus loin que les conditions qui gouvernent l'accumulation et l'utilisation des trois composés semblent très importantes dans le contrôle endogène du phénomène des volées.

2- Cas des composés azotés

Aspects généraux

Le développement du carpophore implique un important prélèvement d'azote de la part du mycélium, qui est réalisé en partie grâce à l'action des diverses enzymes excrétées dans le compost par le champignon: comme de nombreux Basidiomycètes, *Agaricus bisporus* est capable d'utiliser, *via* l'action de diverses protéases extracellulaires, l'azote des protéines et des

TABLEAU IV - COMPARAISON DES TENEURS D'AZOTE TOTAL ET SOLUBLE DU CARPOPHORE A DEUX STADES EXTREMES DE SON DEVELOPPEMENT (d'après les données numériques de Konishi, 1967)
TABLE IV - COMPARISON OF THE TOTAL AND SOLUBLE NITROGEN CONTENT OF THE SPOROPHORE AT TWO ENDS OF ITS DEVELOPMENT (numerical data from Konishi, 1967)

	Carpophore de longueur L = 20 mm	Carpophore de longueur L = 118 mm
Poids de matière sèche (P.M.S.)	0,25 g	12,2 g
Azote total (N_t)		
Quantité	24,9 mg	864,7 mg
Concentration	9,96 % P.M.S.	7,[illegible]5 % P.M.S.
Azote soluble (N_s)		
Quantité	11,3 mg	[illegible] mg
Concentration	4,52 % P.M.S.	2,66 % P.M.S.
Rapport (N_s/N_t) x 100	45,4 %	37,8 %

peptides liés à la fraction ligneuse des pailles, et également celui des protéines microbiennes synthétisées pendant la phase de compostage (Gerrits, 1969). Cependant, le champignon de couche peut aussi utiliser des composés azotés solubles variés, tels les sels d'ammonium, l'urée ou encore divers acides aminés (Casimir & Heinemann, 1953).

Entre le stade "bouton" (longueur L = 20 mm) et le stade sporulant (longueur L = 118 mm), les taux d'azote total et soluble diminuent sensiblement (Tab. IV): la part pondérale des composés non azotés - hydrates de carbone essentiellement - devient prépondérante sur celle des composés azotés. Le rapport du poids d'azote soluble (azote sous forme non polymérisée) au poids d'azote total diminue également, ce qui témoigne de la synthèse accrue de polymères azotés tels que chitine, protéines, acides nucléiques... au cours de la maturation du carpophore. La part des composés azotés solubles reste cependant importante, puisqu'en fin de croissance, l'azote soluble représente encore plus de 30 % de l'azote total. Il est possible, selon Latché (1970) que ces valeurs élevées du taux d'azote soluble soient caractéristiques de la phase de fructification d'*Agaricus bisporus*, étant donné que, dans le mycélium végétatif cultivé sur milieu synthétique, l'azote soluble ne dépasse pas 20 à 30% de l'azote total.

Les taux d'azote soluble (exprimés en pourcentage du poids de "tissu" sec) diminuent également dans les différentes parties du carpophore. Les lamelles recueillent, jusqu'en fin de maturation, les taux les plus élevés, suivies par la trame du piléus et le stipe (Fig. 3). L'évolution différentielle des teneurs d'azote soluble à l'intérieur du carpophore, reflète, comme c'est le cas avec les hydrates de carbone, des différences d'activité métabolique entre parties fertiles (lamelles) et parties stériles (stipe et trame du piléus).

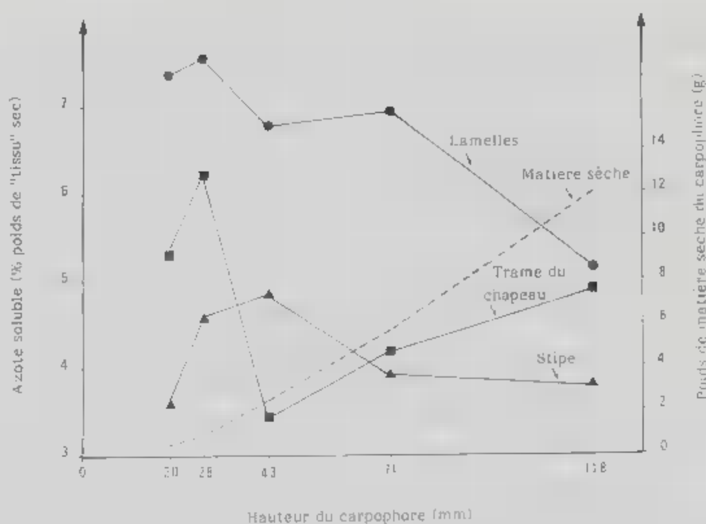


Figure 3 - Evolution de la concentration pondérale d'azote soluble dans les différentes parties du carpophore en développement (d'après les données numériques de Konishi, 1967).

Figure 3 - Changes in soluble nitrogen concentration in different parts of the developing sporophore (numerical data from Konishi, 1967).

L'étude des représentants majeurs des fractions azotées soluble et insoluble a permis de confirmer ces observations et d'apporter des précisions sur le métabolisme azoté du carpophore.

Etude de la fraction azotée soluble

L'azote soluble est représenté en grande partie par des **acides α-aminés libres, oligopeptides** et composés biochimiquement apparentés. Il faut y ajouter l' **urée,** produite en quantité relativement importante, ainsi que les bases azotées, nucléosides et nucléotides libres divers, dont les teneurs, bien que rarement évoquées dans la littérature, ne semblent pas négligeables (Kritskii & Kulaev, 1963; Hashida et al.,1964; Nguyen et al., 1988).

a) Acides aminés libres et apparentés

* Représentativité dans la fraction azotée soluble:

L'azote des acides α-aminés libres représente environ 18 % de l'azote total du carpophore (données de Maggioni et al., 1968, recalculées par Manning, 1985) soit un peu plus de 40 % de l'azote soluble, si l'on admet que cette dernière forme d'azote représente en moyenne 45 % de l'azote total - Latché (1970) donne des valeurs échelonnées entre 34 et 46 % selon la volée considérée. La quantité d'azote total des carpophores ne représentant en moyenne que 6 % du poids de matière sèche (cf Tab. I), les acides α-aminés libres ne contribuent pondéralement qu'à 1,2 % de la matière sèche.

Parmi les acides α-aminés libres détectés dans les carpophores de *A. bisporus*, l' **acide glutamique**, l' **acide aspartique**, l' **α-alanine**, l' **ornithine**, l' **arginine**, la **lysine**, la **proline** et la **sérine** occupent une place importante. Les sept acides aminés obtenus en retranchant l'arginine à la liste précédente, représenteraient près de 80 % de l'azote de l'ensemble des acides α-aminés libres, 20 à 25 % relevant uniquement de l' **acide glutamique** (Manning, 1985).

Les acides aminés tels que la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine, l'histidine, ainsi que les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine, cystine) et aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) sont peu représentés dans la fraction azotée soluble comparativement aux précédents (Latché, 1970).

Parmi les composés apparentés aux acides α-aminés (petits peptides inclus), certains ont été détectés dans le carpophore du champignon de couche à l'état de traces, d'autres en quantités non négligeables, tels par exemple, l' **agaritine** et le **GHB** qui représentent à eux-deux près de 1 % du poids de matière sèche.

La liste proposée ci-après (Tab. V) ne se veut ni définitive ni exhaustive: d'une part, tous les composés azotés solubles sont loin d'avoir été découverts, d'autre part, il est possible que la présence de certains composés soit purement artéfactuelle: par exemple, la présence de L-canavanine (rapportée par Altamura et al., 1967) a été contestée par Rosenthal & Davis (1975).

* Variations quantitatives en fonction du stade de développement du carpophore - Répartition spatiale:

Une étude détaillée a été effectuée par Latché (1970) dont il ressort les résultats suivants:
- les teneurs en acides aminés libres sont élevées dans les jeunes carpophores et augmentent nettement jusqu'à la formation des basidiospores; au moment de la sporulation, on observe une chute marquée et générale de ces teneurs,
- les différentes parties du carpophore (stipe, trame du piléus et lamelles) n'ont pas la même composition en acides aminés libres: **au stade I** (poids moyen du carpophore variant entre 2 et 3,5g, lamelles jaunâtres d'une épaisseur de 1mm environ), le stipe est plus riche en acides aminés basiques (ornithine, arginine, lysine) que le piléus; dans celui-ci, les acides aminés libres les plus représentés sont les acides aspartique et glutamique, l'alanine, la valine, les leucines, les acides aminés soufrés et aromatiques; **au stade II** (carpophores ayant atteint leur taille maximum, mais voile intact et basidiospores pas encore formées), les différences entre stipe et piléus se maintiennent en ce qui concerne la proline, l'arginine, la lysine, l'alanine, la valine, les leucines et les acides aminés aromatiques; la glutamine et l'asparagine constituent avec l'urée la plus grande partie des substances azotées solubles de la trame du piléus; l'hyménium, quant à lui, est riche en proline, acides glutamique et aspartique, mais pauvre en acides aminés basiques; [redacted] **stade III** (hyménium ayant achevé son développement, sporulation ayant déja débuté), parallèlement à la baisse générale du niveau des acides aminés libres, on constate que les proportions relatives des

TABLEAU V - ACIDES AMINES NON PROTEIQUES ET COMPOSES APPARENTES DETECTES A L'ETAT LIBRE DANS LE CARPOPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)
TABLE V - FREE NON PROTEIC AMINO ACIDS AND RELATED COMPOUNDS DETECTED IN THE SPOROPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)

Composés présents en quantités supérieures aux traces	Composés présents à l'état de traces d'après Latché (1970) et/ou Altamura et al. (1967)
N - acétylglucosamine [g]	β-Alanine [b,g,h]
Allantoïne [a]	Acide β-aminoisobutyrique [g]
Acide allantoïque [a]	Citrulline [g,h]
Agaritine (0,5 % P.M.S.*) [d]	Cystathionine [e,g]
Acide α-aminoadipique [e,g]	Acide cystéique [b,f,g,h]
Acide γ-aminobutyrique (GABA) [b,g,h]	Galactosamine [g]
Canavanine [g]	Glucosamine [g]
Carnosine [g]	L - Lanthionine [e]
Créatinine [g]	méso - Lanthionine [g]
Acide diaminobutyrique-2,4 [g]	Méthyl-1 histidine [g]
Dihydroxy-3,4 phénylalanine (DOPA) [e]	Méthyl-3 histidine [g]
Ethanolamine [g]	Phosphoéthanolamine [g]
γ-Glutaminyl-4 hydroxybenzène (GHB) [c]	
γ-Glutaminyl - dihydroxybenzène-3,4 (GDHB) [i]	
γ-Glutamyl - éthanolamine [j]	
γ-Glutamyl - glycine [k]	
γ-Glutamyl - S - méthylcystéine [g]	
Homocystine [g]	
Homosérine [g]	
Hydroxylysine [g]	
Hydroxyproline [g]	
Kynurénine [g]	
Méthionine-sulfone [g]	
Méthionine-sulfoxyde [g,h]	
Phosphosérine [e]	
Saccharopine [b]	
Sarcosine [g]	
Taurine [f,g]	
Acide urique [a]	

* P.M.S. = Poids de matière sèche

Références :

a - Brunel, 1936.
b - Hughes et al., 1958.
c - Jadot et al., 1960.
d - Levenberg, 1961.
e - Latché, 1963.
f - Kissmeyer-Nielsen et al., 1966.
g - Altamura et al., 1967.
h - Latché, 1970.
i - Szent-Gyorgyi et al., 1976.
j - Oka et al., 1979.
k - Oka et al., 1980.

différents acides aminés libres du stipe et de la trame du piléus tendent à s'égaliser sauf en ce qui concerne la proline; dans les lamelles, l'acide glutamique représente plus du tiers du total des acides aminés libres détectés, l'acide aspartique et l'alanine étant également présents en quantités notables.

Comme le suggère Latché (1970), les variations du niveau des acides aminés libres enregistrées dans les différentes parties du carpophore rendent compte, ou bien de changements métaboliques en rapport avec l'élaboration des spores, ou bien de la modification des transferts de substances azotées solubles entre mycélium et carpophore. Les parties stériles du carpophore - stipe et trame du piléus - serviraient en quelque sorte d'"organes" de réserve et/ou d'intermédiaires entre le mycélium végétatif et l'hyménium en développement. Les observations cytologiques de Vogel & Weaver (1972) vont dans ce sens, car elles démontrent l'existence d'un processus de migration de matériel cellulaire - cytoplasme et mitochondries - vers les lamelles, et ce, à partir du reste du carpophore.

Toutefois, il est possible, selon l'hypothèse de Konishi (1967), que ces acides aminés libres, compte-tenu de leur faible teneur pondérale, ne participent pas directement à l'élaboration de constituants cellulaires, mais servent d'activateurs dans certaines voies métaboliques voire d'intermédiaires dans la synthèse d'éventuels facteurs de croissance, notamment le toujours hypothétique (et non identifié) facteur d'allongement du stipe et d'expansion du piléus. L'auteur a pu mettre en évidence un mouvement globalement ascendant des acides aminés libres dans le carpophore, qui pourrait être corrélé au mouvement descendant du facteur de croissance produit par les lamelles.

L'acide glutamique, qui constitue un aliment azoté de choix, à la fois pendant la croissance végétative du mycélium et le développement du carpophore (Piquemal, 1970), semble occuper une place prépondérante dans le métabolisme azoté du carpophore: cet acide aminé, qui est de loin le plus abondant dans la fraction α-aminée libre et dans les protéines, est issu du cycle de Krebs (Le Roux, 1966) et constitue le donneur préférentiel de groupements $-NH_2$ dans les réactions de transamination conduisant à la synthèse de nombreux acides aminés (Latché, 1970). Baldy (1975, 1976, 1977) a démontré l'existence d'une dérivation du cycle de Krebs au niveau de l'acide α-cétoglutarique, aboutissant à l'acide succinique par l'intermédiaire de l'acide glutamique et de l'acide γ- aminobutyrique; la fonction exacte de cette dérivation n'est pas encore connue, mais il est possible, étant donné que cette voie est plus active que les réactions conventionnelles du cycle de Krebs entre l'α-cétoglutarate et le succinate, qu'elle soit utilisée dans la synthèse des acides aminés.

b) Urée

La teneur en urée des carpophores du champignon de couche s'élève en moyenne à 0,5 - 1 % du poids de matière sèche; d'après Iwanoff (1923), elle ne cesserait d'augmenter au cours de la croissance, pour atteindre la valeur de 6,18 % dans les carpophores mûrs de *A. campestris* (ici confondu avec *A. bisporus*).

Les résultats d'Iwanoff ont été nuancés par Latché (1970): la concentration en urée des carpophores resterait relativement stable au cours des différents stades de croissance, la carbamide devenant, suite à la diminution du niveau global des acides aminés libres, le composé azoté soluble prépondérant dans les échantillons âgés. La carbamide, plus abondante dans le piléus que dans le stipe des jeunes carpophores, tend à s'accumuler dans les lamelles des carpophores mûrs (Latché, 1970). Ce fait a également été constaté par Moore (1984) chez *Coprinus cinereus*.

L'urée est un composé fréquemment rencontré chez les Basidiomycètes, qui peut avoir pour origine, ou bien la dégradation aérobie des purines, issues elles-mêmes du catabolisme des acides nucléiques, ou bien le cycle de Krebs - Henseleit ou cycle de l'ornithine, qui fonctionne chez les Basidiomycètes de la même façon que chez les animaux uréotéliques (*i.e.* animaux excrétant l'azote sous forme d'urée). Chez *A. bisporus*, il semble que l'urée soit formée en majeure partie *via* le cycle de l'ornithine, car les uréides glyoxyliques (allantoïne et acide allantoïque) sont produits en quantités insignifiantes par rapport à la carbamide (Brunel, 1936; Reinbothe & Tschiersch, 1962).

Le rôle physiologique de l'urée est encore mal connu chez les Basidiomycètes, comme en témoignent les résultats parfois contradictoires de différents auteurs.

Selon Iwanoff (dont les travaux de 1923 à 1927 sont résumés par Foster, 1949), la formation d'urée dans les champignons, dépendrait d'un excès de nutrition azotée intermédiaire et de l'absence ou d'un défaut d'hydrates de carbone: l'urée ne s'accumulerait que dans les champignons cultivés sur un milieu riche en azote et constituerait ainsi une réserve d'azote, dans l'attente de conditions favorables pour son utilisation dans les processus de croissance; les champignons cultivés sur milieu dépourvu de source azotée ou seulement à base d'hydrates de carbone, ne produiraient pas d'urée; la formation d'urée serait donc consécutive à un processus d'autolyse.

Pour Reinbothe et al. (1967), l'urée, dans les carpophores de *A. bisporus*, serait un produit final du catabolisme et non une forme de substrat azoté, comme cela semble être le cas chez *Lycoperdon pyriforme*; en effet, dans les carpophores de ces deux espèces, l'existence de l'uréase - enzyme catalysant l'hydrolyse de l'urée en gaz carbonique et en ammonium - a été démontrée, mais en ce qui concerne *A. bisporus*, il n'a pas pu être prouvé que l'azote de l'urée est réassimilé au cours de la synthèse protéique liée à la sporogenèse.

Une hypothèse plus récente proposée par Moore (1984) suggère, chez les Basidiomycètes ayant un cycle de l'urée fonctionnel, un contrôle de la morphogenèse *via* l'activité de l'uréase: les faibles teneurs d'urée dans le stipe de *Coprinus cinereus* seraient corrélées avec la forte activité de l'uréase dans cette même partie du champignon, la réciproque étant observée dans le piléus. Selon l'auteur, l'activité accrue de l'uréase entraînerait la production de gaz carbonique, composé connu pour son action positive sur la croissance du stipe chez *A. bisporus* (Flegg & Wood, 1985). Par ailleurs, dans

l'hyménium de *C. cinereus*, la concentration d'urée (bien que plus élevée que dans le reste du carpophore) reste pratiquement inchangée par rapport au poids de tissu frais, ce qui pourrait signifier que l'urée y exerce une fonction osmotique, à l'image de celle du mannitol dans les parties stériles du carpophore de *A. bisporus*.

La confirmation d'une telle hypothèse implique, selon Moore (1984), la recherche des facteurs internes qui gouvernent l'amplification spécifique du cycle de l'urée dans les piléus des carpophores en cours de croissance; cela permettrait également de comprendre pourquoi l'urée a tendance à s'accumuler dans les carpophores de *A. bisporus* après la cueillette (Hammond, 1979 a).

Etude de la fraction azotée insoluble

Parmi les composés de la fraction insoluble de l'azote (*i.e.* sous forme polymérisée), les protéines sont sans doute ceux qui ont été les mieux étudiés dans le carpophore de *A. bisporus*. En effet, peu de données sont disponibles en ce qui concerne le métabolisme des autres polymères azotés, chitine et acides nucléiques principalement.

* Protéines:

Du point de vue qualitatif, la composition en acides aminés des protéines du carpophore est très voisine de celle de la fraction α-aminée libre; elle peut varier selon la nature de la souche mycélienne (Weaver et al., 1977; Bakowski et al., 1986 b) et/ou selon la nature des composés azotés ajoutés au compost (Delmas & Poitou, 1965; Kissmeyer-Nielsen et al., 1966; Kosson & Bakowski, 1984; Bakowski et al., 1986 a). Les acides aminés les plus fréquents dans les protéines sont l'acide glutamique, l'acide aspartique, l'α-alanine, la proline, la leucine et la lysine (Maggioni et al., 1968; Latché, 1970; Hayes &Haddad, 1976; Weaver et al., 1977). D'après Latché (1970), les acides aminés tels que le glycocolle, la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine, l'histidine, la phénylalanine et la tyrosine, qui occupent une faible part des acides aminés libres, semblent occuper une place relativement plus importante dans les protéines.

Du point de vue quantitatif, les protéines du carpophore renfermeraient près de 90 % de l'azote insoluble du carpophore - en utilisant l'acide trichloracétique comme défécant (Latché, 1970); si l'on considère que ces protéines représentent en moyenne 25 % du poids de matière sèche (en se basant sur les données de Weaver et al., 1977) et qu'elles contiennent environ 12 % d'azote (Fitzpatrick et al., 1946), alors l'azote qu'elles renferment représenterait au total 3 % de la matière sèche du carpophore, soit 50 % de l'azote total du carpophore (en se basant sur une teneur en azote total de 6 % du poids de matière sèche; cf. Tab. I).

Les protéines cytoplasmiques (dites "solubles" car on peut les extraire par l'eau, contrairement aux protéines membranaires qui exigent le recours à des détergents) ne sont pas uniformément réparties dans le carpophore: à tous les stades de croissance, le piléus est plus riche en protéines solubles que le stipe, et en fin de croissance (stade 7), les lamelles recueillent deux fois plus de protéines que le stipe. Au cours du développement du

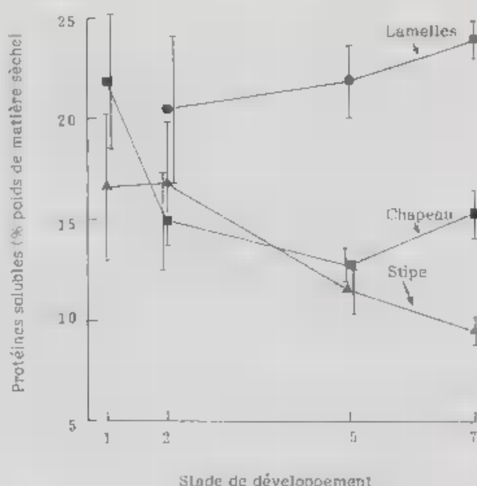


Figure 4 - Evolution du taux de protéines solubles dans les différentes parties du carpophore en développement (d'après Hammond & Nichols, 1976 a).

Figure 4 - Changes in soluble protein content in different parts of the developing sporophore (from Hammond & Nichols, 1976 a).

carpophore, le taux de protéines solubles (calculé par rapport au poids de matière sèche) diminue dans le stipe et la trame du piléus, tandis qu'il augmente dans les lamelles (Fig.4). Diverses explications à ces résultats peuvent être proposées:

- ou bien, comme l'ont suggéré Hammond & Nichols (1976 a), la baisse du taux de protéines solubles dans les parties stériles du carpophore relève d'un processus de migration de matériel cellulaire en direction des lamelles, confirmant par là-même les observations cytologiques de Vogel & Weaver (1972) - déjà mentionnées plus haut,

- ou bien, cette diminution est provoquée par un phénomène de protéolyse analogue à celui qui a été observé chez *Flammulina velutipes* (Chao & Gruen, 1987).

Des variations d'activité protéolytique intracellulaire se produisent au cours du développement du carpophore, chez *A. bisporus*, mais elles ne sont pas corrélées de façon positive avec celles du taux de protéines solubles, pendant les stades précoces de croissance: les résultats expérimentaux de Burton (1988) montrent, en effet, qu'entre les stades 2 et 5, il y a simultanément, diminution du taux de protéines solubles et de l'activité des protéases intracellulaires dans la cuticule et la trame du piléus. Pour Burton, la baisse des teneurs en protéines solubles au cours du développement précoce (les mesures étant exprimées par rapport au poids de matière fraîche et non de matière sèche) serait due à un phénomène de dilution, consécutif à une accumulation d'eau dans les hyphes du carpophore.

Cependant, au cours des stades ultimes du développement du carpophore (stades 5 à 7), un net accroissement de l'activité protéasique intracellulaire a été observé (Wood, 1979; Burton, 1988), qui pourrait être, selon Wood (1979), un moyen de diriger des peptides ou des acides aminés vers des régions où la synthèse protéique est active, les lamelles en particulier.

* Chitine:

La chitine, qui représente entre 0,5 et 0,6 % du poids de matière fraîche du carpophore chez *A. bisporus* (Manning, 1985), est le constituant structural de base de la paroi des hyphes et de celle des spores chez la plupart des champignons; c'est un polymère non ramifié de la N - acétyl - D - glucosamine, qui forme, avec son dérivé désacétylé, le chitosane (polymère de la D - glucosamine), des microfibrilles dont le rôle de soutien est tout-à-fait comparable à celui de la cellulose, chez les végétaux chlorophylliens (Crisan & Sands, 1978; Novaes-Ledieu & Mendoza, 1981).

Chez *A. bisporus*, la synthèse de chitine est catalysée par une enzyme présente dans le mycélium et les carpophores, la chitine synthase (ou chitine synthétase), dont les propriétés biochimiques sont très voisines de celles de la chitine synthase des autres champignons (Craig et al., 1981; Hänseler et al., 1983); la synthèse de chitine a lieu dans des vésicules cytoplasmiques appelées chitosomes (Bartnicki-Garcia et al., 1978).

L'activité de la chitine synthase est étroitement liée aux processus de croissance cellulaire, car l'application de Polyoxine D, inhibiteur de l'enzyme, bloque la croissance du mycélium et le développement du carpophore (Wood & Hammond, 1977); par ailleurs, Craig et al. (1981) ont constaté que la chitine synthase est plus active dans la région supérieure du stipe - où l'allongement cellulaire est maximal - que dans la région basale du stipe.

* Acides nucléiques:

Les acides désoxyribonucléiques (ADN) et ribonucléiques (ARN) représentent à eux-deux près de 3 % du poids de matière sèche du carpophore (Li & Chang, 1982); la teneur en ADN des noyaux est faible, comparée à celle des autres Eucaryotes, ce qui est une caractéristique générale des champignons (Arthur et al., 1982).

Il existe une évolution différentielle des teneurs en acides nucléiques des différentes parties du carpophore en cours de croissance qui reflète, comme c'est le cas avec les hydrates de carbone non structuraux ou les protéines solubles, des différences d'activité métabolique: les teneurs en ADN et ARN du stipe et de la trame du piléus ne montrent pas de changements majeurs, alors que celles des lamelles augmentent fortement au cours du développement du carpophore; le taux d'ARN des lamelles (exprimé en pourcentage du poids de "tissu" sec) augmente de façon continue entre les stades 1 (primordium) et 8 (sénescent), et leur taux d'ADN double entre les stades 2 ("bouton") et 3 ("coupe fermée"), période qui pourrait correspondre à la méiose ou aux divisions post-méiotiques associées à la sporogenèse (Minamide & Hammond, 1985). Il est à noter que ces obser-

vations ne concernent que les carpophores émergeant du compost en phase (*i.e.* pendant une même volée). Dans les lamelles des carpophores émergeant en dehors des volées, les taux d'acides nucléiques stagnent (ADN) voire diminuent (ARN), sans doute, d'après les auteurs, sous l'effet des variations intervenant dans la disponibilité du substrat au cours du cycle de fructification - épuisement du compost et compétition entre carpophores.

MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES LIÉES AU PHÉNOMÈNE DES VOLÉES

1- Généralités

Le champignon de couche, comme plusieurs champignons supérieurs, est caractérisé par une fructification périodique: au cours du cycle de récolte - étalé sur 40 jours environ, à compter de l'apparition des premiers carpophores - vont se succéder tous les 6-12 jours, 5 à 6 poussées successives de carpophores appelées **volées**, d'une durée de 3 à 6 jours chacune. En général, la deuxième volée (voire la troisième) est la plus productive, à la fois en nombre et en poids de carpophores; ensuite, les rendements baissent progressivement et la fructification cesse lorsque le substrat est complètement épuisé (Fig. 5).

Les modifications de la qualité des champignons d'une volée à l'autre sont un fait bien connu des producteurs: elles reflètent les changements biochimiques qui se produisent dans les carpophores tant au niveau du métabolisme azoté que carboné.

L'étude des modifications biochimiques en rapport avec le phénomène des volées présente un intérêt particulier au plan fondamental; en effet, une connaissance approfondie du métabolisme des carpophores s'impose si l'on

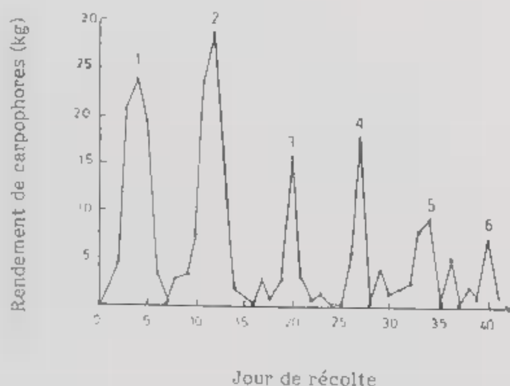


Figure 5 - Représentation d'un cycle de fructification d'*Agaricus bisporus* (d'après Speroni et al., 1983). Chaque pic numéroté représente une volée.

Figure 5 - Example of a fruiting cycle of *Agaricus bisporus* (from Speroni et al., 1983). Each numbered peak represents a flush.

veut élucider les facteurs internes et externes qui gouvernent le cycle de fructification du champignon. Les recherches effectuées dans ce sens, notamment par Hammond et ses collaborateurs, ont permis d'avancer certaines hypothèses en ce qui concerne le déterminisme du rythme de fructification d'*Agaricus bisporus*.

2- Influence des volées sur quelques constituants du carpophore

Cas des composés azotés

D'une façon générale, les carpophores issus des 2ème et 3ème volées sont caractérisés par un optimum du taux d'azote total (Bakowski et al., 1986 a); les teneurs élevées de ce taux relèvent à la fois d'une augmentation du taux d'azote protéique (Kissmeyer-Nielsen et al., 1966; Latché, 1970; Kosson & Bakowski, 1984) et du taux d'azote soluble (Latché, 1970). Latché (1970) rapporte que le taux d'azote insoluble (*i.e.* précipitant dans l'acide trichloracétique à 10 %) reste inférieur à celui d'azote soluble tout au long du cycle de fructification, la différence tendant par ailleurs à s'accentuer en fin de cycle.

Le niveau total des acides aminés des protéines subit des variations sensibles d'une volée à l'autre, la 3ème volée étant généralement la plus riche (Baldy et al., 1967; Latché, 1970).

Au plan qualitatif, la composition centésimale en acides aminés des protéines reste relativement stable (Baldy et al., 1967; Maggioni et al., 1968; Latché, 1970); cependant, certains auteurs ont noté une baisse du taux de lysine (Maggioni et al., 1968; Bakowski et al., 1986 a) et une augmentation du taux d'arginine (Hughes & Rhodes, 1959). Hughes et al. (1958) et Paranjpe et al. (1978) ont remarqué une chute du taux de tyrosine en fin de cycle de culture, contredisant en apparence les résultats de Kissmeyer-Nielsen et al. (1966), Baldy et al. (1967) et Maggioni et al. (1968), qui rapportent une multiplication par un facteur 3 du taux de cet acide aminé entre les 1ère et 3ème volées; selon Hughes et al. (1958), la plus forte teneur en tyrosine des carpophores issus des volées précoces pourrait expliquer la plus grande sensibilité de ceux-ci au brunissement après récolte: la tyrosine - bien que cela soit remis en question par Rast et al. (1981) - est reconnue pour être un des substrats naturels de la tyrosinase, enzyme produite par le champignon en phase de fructification (Turner, 1974), qui catalyse la synthèse des pigments (mélanines) responsables du brunissement des couches externes - et également des lamelles - dans les carpophores mûrs et les jeunes carpophores fraîchement récoltés.

En ce qui concerne la fraction azotée soluble, on ne dispose de données que sur les acides aminés libres, l'urée et les formes inorganiques d'azote.

Comme c'est le cas pour la teneur en protéines, la teneur globale en acides aminés libres atteint son optimum dans les carpophores de 3ème volée. Latché (1970) a cependant constaté des variations très nettes des teneurs relatives de certains constituants de la fraction α-aminée libre:

- les taux d'acide aspartique et d'α-alanine sont optimums dans les carpophores de 2ème volée,

- en 3ème volée, il y a accumulation de proline, d'arginine et, à un moindre degré, de sérine, thréonine, γ-aminobutyrate (GABA) et glycine,

- le taux de méthionine sulfoxyde est optimum en 4ème volée,

- les taux de lysine et d'ornithine diminuent au cours des volées successives - ce qui peut être mis en parallèle avec l'augmentation du taux d'arginine, dont l'ornithine constitue le précurseur (cf le cycle de Krebs-Henseleit),

- enfin, les amides libres, asparagine, glutamine et urée, sont en concentration maximum dans les carpophores des 2ème et 4ème volées, où elles représentent plus de 40 % de l'azote soluble.

L'acide glutamique, qui demeure le plus abondant de tous les acides aminés libres dosés (Latché, 1970) dans les carpophores de 1ère et 3ème volées, voit sa teneur relative baisser dans les carpophores de 3ème volée.

Les résultats obtenus par Latché (1970) concordent avec ceux de Kissmeyer-Nielsen et al. (1966), Baldy et al. (1967) et Maggioni et al. (1968) en ce qui concerne l'accumulation de proline (en 3ème volée) et d'urée (en 2ème volée), et également avec ceux de Hughes & Rhodes (1959) et Paranjpe et al. (1978) en ce qui concerne la baisse des taux de tyrosine et de phénylalanine dans les carpophores issus des dernières volées.

Les taux de nitrates et de nitrites des carpophores - relativement bas par rapport à ceux de certains végétaux (soit de l'ordre de 0,1 mg/100 g, pour les nitrites, et 5 mg/100 g de matière fraîche pour les nitrates) - auraient tendance à augmenter en fin de cycle de fructification, selon Bakowski et al. (1986 a).

Si l'on ne peut tirer de règle générale quant aux fluctuations du niveau de certains composés azotés des carpophores au cours du cycle de fructification, c'est sans doute parce qu'il existe une relation étroite entre la composition du compost et celle des carpophores. En effet, la nature et la concentration de la source azotée fournie au champignon peut avoir une influence notable, en particulier sur la composition de la fraction azotée soluble. Delmas & Poitou (1965) rapportent que l'addition d'acide glutamique au compost entraîne une augmentation générale du niveau des acides aminés libres du carpophore - acide glutamique compris -, tandis que l'addition d'asparagine a les effets inverses. La supplémentation du compost avec des mélanges complexes tels que la gélatine ou l'hydrolysat de caséine, entraîne des modifications dont les plus importantes portent sur les teneurs en acide aspartique, acide glutamique, glycocolle, sérine, proline, histidine et urée (Kissmeyer-Nielsen et al., 1966). La nature même du compost joue un rôle important: à titre d'exemple, les carpophores poussés sur compost à base de fumier de cheval ont des teneurs en nitrates et en nitrites deux fois plus faibles que les carpophores de même âge et de même souche poussés sur compost à base de lisier de poulet (Bakowski et al., 1986 a).

Ainsi, comme le souligne Latché (1970), il existerait en fonction du phénomène des volées, des variations, soit dans la perméabilité aux substances dissoutes, soit dans le déroulement de certains processus métaboliques.

L'activité des transaminases qui donnent naissance à un certain nombre d'acides aminés, est accrue dans les volées où ces mêmes acides aminés sont en plus forte concentration à l'état libre - en général, la 3ème volée: cela pourrait expliquer, en grande partie, l'observation selon laquelle les acides cétoniques qui servent de substrat aux transaminases (glyoxylate, pyruvate, hydroxypyruvate, oxalacétate, α-cétoglutarate et phénylpyruvate), sont en concentration plus faible dans les carpophores de 3ème volée que dans ceux de 1ère et 2ème volées (Latché, 1970). L'accumulation de certains acides aminés libres dans les carpophores, au cours du cycle de récolte, pourrait donc être attribuée, au moins en partie, à une augmentation des processus de biosynthèse - cas de l'arginine, qui est issue du cycle de l'ornithine, elle-même dérivant de l'acide glutamique. Pour d'autres acides aminés, tels la proline, l'accumulation observée pourrait relever d'une élévation du taux d'absorption du composé à partir du compost (Latché, 1970).

Cas des hydrates de carbone solubles

Comme cela a été observé avec certains métabolites azotés, les modifications du niveau de certains hydrates de carbone solubles du carpophore en rapport avec le phénomène des volées, dépendent plus ou moins de la nature du compost. Le taux de tréhalose augmente fortement entre la 1ère et la 6ème volée dans les carpophores cultivés sur compost à base de fumier de cheval, tandis qu'il fluctue de façon irrégulière dans les carpophores formés sur compost à base de fumier de plumes de poule grillées; le taux de glucose, qui reste quasiment constant au cours du cycle de récolte, dans les carpophores développés sur fumier de cheval, fluctue entre les différentes volées (en marquant un maximum dans les carpophores des 2ème et 5ème volées), sur fumier de plumes de poule; quant au mannitol, il a tendance à s'accumuler en plus forte concentration dans les carpophores des 5ème et 6ème volées, et ce, quelle que soit la nature du compost (Bakowski et al., 1986 c).

3- Rôle du métabolisme hydrocarboné dans le déterminisme des volées

Si l'on cerne mieux aujourd'hui la nature des facteurs qui déterminent le processus des volées chez *Agaricus bisporus*, c'est en grande partie grâce aux progrès considérables réalisés dans la connaissance du métabolisme des hydrates de carbone du champignon.

Une voie de recherche a été ouverte par Parrish et al. (1976), qui ont démontré l'existence d'une relation directe entre la teneur en mannitol des carpophores récoltés pendant une volée et le rendement de la volée. Les résultats, obtenus avec d'autres composés par différents auteurs, permettent à présent d'avoir une représentation éloquente des événements métaboliques en rapport avec le phénomène des volées (Fig. 6):

- avant le départ de la volée, il y a accumulation de tréhalose et de glycogène dans les initiales de carpophores encore à l'état dormant

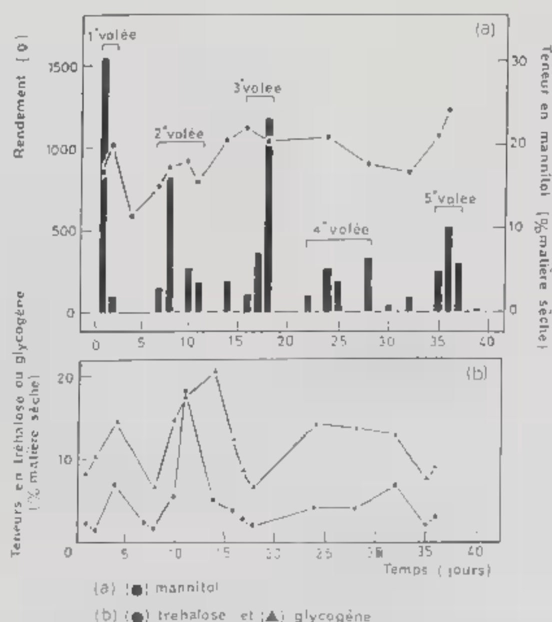


Figure 6 - Evolution, au cours d'un cycle de récolte, des teneurs en mannitol (a), tréhalose et glycogène (b) dans des carpophores de stade 2 issus d'un même plateau de compost (d'après Hammond & Nichols, 1979).

Figure 6 - Changes, during a cropping cycle, in mannitol (a), trehalose and glycogen (b) content in sporophores from stage 2 grown on the same tray of compost (from Hammond & Nichols, 1979).

(Hammond & Nichols, 1979) et parallèlement, on observe une activité minimale de la glycogène phosphorylase et de la tréhalase (Hammond, 1986; Wells et al., 1987); il semble que les niveaux cumulés des deux hydrates de carbone déterminent le rendement de la volée à venir; par ailleurs, à ce stade, le mannitol est à son niveau minimum,

- **pendant la croissance de la volée,** on observe un affaiblissement des teneurs en tréhalose et en glycogène, sans doute en réponse aux besoins énergétiques accrus des carpophores (Hammond & Nichols, 1979): les activités de la tréhalase et de la glycogène phosphorylase sont alors maximales (Hammond, 1986; Wells et al., 1987); l'accumulation de mannitol dans les carpophores s'accompagne d'une élévation de la teneur en eau de ceux-ci, d'où l'accroissement considérable de la biomasse (Hammond & Nichols, 1979),

- **après la récolte de la volée,** la demande en hydrates de carbone est considérablement réduite, et il faut alors attendre un certain laps de temps avant l'émergence de la volée suivante (durée d'une inter-volée) pour que les niveaux des hydrates de carbone retournent à leurs valeurs initiales (Hammond & Nichols, 1979).

Parallèlement à ces observations, il a été constaté un changement dans l'équilibre des voies d'oxydation des hexoses au cours du cycle de fructification: Hammond (1981, 1986) rapporte en effet, que l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase, enzyme-clef de la voie des hexoses monophosphates (HMP), est 20 fois plus élevée dans les carpophores de stade 2 récoltés en début de volée, que dans ceux récoltés au même stade en milieu de volée; l'augmentation d'activité des enzymes de la voie des HMP, permettant la production de NADP réduit, donc la synthèse du mannitol (activité de la mannitol déshydrogénase), assurerait ainsi le démarrage de la volée.

Chanter (1979) a proposé un modèle mathématique rendant compte des événements métaboliques survenant au cours du cycle de fructification: l'auteur suggère qu'un substrat hypothétique est absorbé et accumulé par le mycélium jusqu'à ce qu'un certain niveau-seuil soit atteint et permette l'initiation des carpophores; la croissance de la volée entraînerait alors une diminution des réserves de substrat intramycélien en-dessous du niveau-seuil, empêchant ainsi l'émergence d'une nouvelle volée; après la récolte, le substrat en question pourrait à nouveau s'accumuler et initier une nouvelle volée.

Le tréhalose et le glycogène paraissent se comporter comme le substrat hypothétique de Chanter, si l'on s'en tient aux seuls résultats de Hammond & Nichols (1979). Cependant, les résultats plus récents de Claydon et al. (1988) semblent indiquer qu'on a affaire à un modèle plus complexe. En effet, il est quasiment prouvé que le glycogène et le tréhalose sont synthétisés par le champignon à partir des sucres relargués dans le compost *via* l'activité de certaines hydrolases extracellulaires, notamment celle de l'endocellulase - enzyme catalysant l'hydrolyse en glucose des constituants cellulosiques du compost. Or, contrairement à l'hypothèse de Chanter, les résultats expérimentaux de Claydon et al. démontrent que:

- le prélèvement d'hydrates de carbone par le champignon ne semble pas être un processus à vitesse constante: à chaque volée, correspond un pic d'activité de l'endocellulase, l'activité de l'enzyme étant par ailleurs directement proportionnelle à la biomasse produite,

- il semble qu'il n'y ait pas de gros changements de la biomasse mycélienne dans le compost, donc des réserves en substrat intramycélien, au moment de la fructification - comme cela a été montré chez *Flammulina velutipes* - puisqu'à ce stade, le mycélium est en limitation de croissance.

Ainsi, comme le suggèrent Claydon et al., l'activité des enzymes assurant l'apport carboné vers le mycélium, serait régulée par la biomasse des carpophores; ce mécanisme permettrait d'établir un équilibre entre les dépenses d'hydrates de carbone pendant la construction des carpophores et les apports *via* l'activité des hydrolases extracellulaires.

Si la preuve est donnée que le champignon de couche, comme d'autres Basidiomycètes saprophytes, peut réguler l'activité de certaines enzymes extracellulaires pendant la morphogenèse des carpophores, la nature exacte de la régulation reste, en revanche, à déterminer. En ce qui concerne l'activité de l'endocellulase extracellulaire d'*Agaricus bisporus*, il est possible,

comme le suggère Wood (1985) - faisant référence aux travaux de Hammond - que la régulation soit exercée par les niveaux intramycéliens d'hydrates de carbone solubles tels que ceux du glucose ou du tréhalose; les changements de concentration en sucres dans le mycélium, dus à l'exportation de ceux-ci vers les carpophores en développement, pourraient constituer un mécanisme de contrôle de la production de l'enzyme: en effet, l'endocellulase de *A. bisporus* appartient au type de cellulases fongiques induites par la cellulose (substrat) et à répression catabolique (Manning & Wood, 1983).

L'activité de la laccase - phénoloxydase majeure excrétée dans le compost par le mycélium - suit le modèle inverse de celui de l'endocellulase: l'activité de l'enzyme augmente jusqu'à l'émergence de la première volée de carpophores puis diminue ensuite rapidement (Turner, 1974; Wood & Goodenough, 1977). La perte d'activité de la laccase, due semble-t-il, à une inactivation suivie par une dégradation, pourrait correspondre à une réassimilation des acides aminés de la protéine par le champignon, étant donné que celle-ci représente 2 % des protéines mycéliennes, soit 0,7 % de la biomasse fongique (Wood, 1980 a, b); selon une autre hypothèse - ne contredisant pas forcément la précédente -, l'inactivation de la laccase au moment de la fructification permettrait de lever l'inhibition exercée éventuellement sur le développement des carpophores par certains produits de l'activité enzymatique, incluant des quinones - d'où un rôle possible de la laccase dans l'induction de la fructification.

En conclusion, le modèle développé par Chanter (1979) a ouvert de nouvelles perspectives de recherche dans l'étude des facteurs contrôlant le phénomène des volées. Il est aujourd'hui admis qu'une régulation de la biomasse des carpophores s'opère *via* les réserves de substrat stockées dans le mycélium - hydrates de carbone solubles essentiellement. Cependant, le modèle n'explique pas le caractère endogène du rythme de fructification du champignon; il a en effet été constaté qu'en l'absence de cueillette, la production de carpophores conserve sa périodicité, les volées étant toutefois très espacées dans le temps et la biomasse (en nombre de carpophores) considérablement réduite; la cueillette des carpophores résulte en une accélération du rythme de fructification, accompagnée d'une augmentation du rendement des volées, l'accélération étant d'autant plus grande que le stade de maturité des carpophores à la récolte est plus précoce (Cooke & Flegg, 1965). L'hypothèse selon laquelle une (ou plusieurs) substance(s) inhibitrice(s) serai(en)t émise(s) par les spores des champignons ou le mycélium dans le compost (Cooke & Flegg, 1965) reste tout-à-fait plausible - bien qu'elle n'ait pas été confirmée à ce jour -, et elle ne contredit pas celle d'une régulation ultime de la croissance des volées par les niveaux endogènes d'hydrates de carbone solubles.

CONCLUSION

Grâce à l'amélioration considérable des techniques d'observation et d'analyse, on est en mesure aujourd'hui, de prédire les grands changements de la composition biochimique des carpophores d'*Agaricus bisporus* liés aux processus de croissance et au phénomène des volées.

Cependant, certaines questions fondamentales restent encore sans réponse, sans doute, dans une large mesure, à cause des difficultés techniques rencontrées dans la maîtrise de la fructification du champignon *in vitro* (*i.e.* sur milieu axénique, défini). Une fois ce problème résolu, on pourra explorer de façon plus approfondie et surtout plus rationnelle, les interactions champignon - substrat, et ainsi mieux comprendre les mécanismes physiologiques et métaboliques de la reproduction sexuée du champignon.

Ces recherches doivent naturellement trouver des applications pratiques: amélioration de la valeur nutritive et gustative des champignons, contrôle du phénomène de brunissement après récolte ou, pourquoi pas, production de substances d'intérêt pharmaceutique, phytosanitaire ou autre... Une chose est sûre néanmoins: les progrès dans la gestion du rendement et de la qualité des récoltes, ne pourront se faire sans l'appui d'une solide connaissance fondamentale de la biologie, et plus précisément, de la biochimie du champignon.

REMERCIEMENTS

J'adresse tous mes remerciements au Professeur Noël ARPIN, Directeur du Laboratoire, qui m'a suggéré l'idée de cette publication et qui a accepté de critiquer, de façon constructive, mon manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

ABOU-HEILAH A.N., KASSIM M.Y. and KHALIEL A.S., 1987 - Chemical composition of the fruiting bodies of *Agaricus bisporus*. *Phyton (Horn)* 47: 63-68.

ALTAMURA M.R., ROBBINS R.M., ANDREOTTI R.E., LONG L. Jr. and HASSELSTROM T., 1967 - Mushroom ninhydrin-positive compounds. Amino acids, related compounds and other nitrogenous substances found in cultivated mushroom, *Agaricus campestris*. *J. Agric. Food Chem.* 15: 1040-1043.

ANDERSON E.E. and FELLERS C.R., 1942 - The food value of mushrooms (*Agaricus campestris*). *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 41: 301-304.

ARTHUR R., HERR F., STRAUS N., ANDERSON J. and HORGEN P., 1982 - Characterization of the genome of the cultivated mushroom, *Agaricus brunnescens*. *Exp. Mycol.* 7: 127-132.

BAKOWSKI J. and KOSSON R., 1985 - Nutritional value and amino acid composition of the mushroom (*Agaricus bisporus*) at different stages of its development. *Acta Agrobot.* 38: 103-113.

BAKOWSKI J., KOSSON R. and MICHALIK H., 1986 a - The influence of flushes on some constituents of mushrooms (*Agaricus bisporus*) cultivated on different composts. *Ibidem* 39: 99-110.

BAKOWSKI J., KOSSON R. and HORBOWICZ M., 1986 b - Nutritional values of different strains of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Ibidem* 39: 111-121.

BAKOWSKI J., SZUDYGA K., HORBOWICZ J.C. and CZAPSKI J., 1986 c - The influence of compost on carbohydrates and minerals content in the mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Ibidem* 39: 85-97.

BALDY P., 1975 - Métabolisme du γ-aminobutyrate chez *Agaricus bisporus*. I. La L-glutamate-1-carboxylyase. *Physiol. Pl.* 34: 365-372.

BALDY P., 1976 - Métabolisme du γ-aminobutyrate chez *Agaricus bisporus*. II. La γ-aminobutyrate: α-cétoglutarate aminotransférase. *Planta* 130: 275-281.

BALDY P., 1977 - Métabolisme du γ-aminobutyrate chez *Agaricus bisporus*. III. La succinate-semialdéhyde: NAD(P)+ oxydoréductase. *Physiol. Pl.* 40: 91-97.

BALDY P., PIQUEMAL M. et LATCHE J.-C., 1967 - Variations du bilan azoté des acides aminés libres et constitutifs des protéines au cours des différentes volées d'une culture d'*Agaricus campestris* Fr. var. *bisporus*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D.*, 265: 1709-1712.

BARTNICKI-GARCIA S., BRACKER C.E., REYES E. and RUIZ-HERRERA S., 1978 - Isolation of chitosomes from taxinomically diverse fungi and synthesis of microfibrils *in vitro*. *Exp. Mycol.* 2: 173-192.

BRUNEL A., 1936 - Le métabolisme de l'azote d'origine purique chez les champignons. Thèse Doct., Univ. Paris, France.

BURTON K.S., 1988 - The effects of storage and development on *Agaricus bisporus* proteases. *J. Hort. Sci.* 63: 103-108.

BYRNE A.R., DEMELJ M. and VAKELJ T., 1979 - Silver accumulation by fungi. *Chemosphere* 8: 815-821.

BYRNE P.F.S. and BRENNAN P.J., 1975 - The lipids of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 89: 245-255.

CASIMIR J. et HEINEMAN P., 1953 - Contribution à l'étude du métabolisme azoté chez les champignons. Nutrition du mycélium d'*Agaricus hortensis* var. *alba* au moyen de différents acides aminés. *Mushroom Sci.* 2: 21-26.

CHANTER D.O., 1979 - Harvesting the mushroom crops: a mathematical model. *J. Gen. Microbiol.* 115: 79-87.

CHAO E.M. and GRUEN H.E., 1987 - Intracellular activity of mycelial proteinases during fruit-body development in *Flammulina velutipes*. *Canad. J. Bot.* 65: 518-525.

CLAYDON N., ALLAN M. and WOOD D.A., 1988 - Fruit body biomass regulated production of extracellular endocellulase during periodic fruiting by *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 90: 85-90.

COOKE D. and FLEGG P.B., 1965 - The effect of stage of maturity at picking on the flushing of crops of the cultivated mushroom. *J. Hort. Sci.* 40: 202-212.

CRAIG G.D., WOOD D.A. and GULL K., 1981 - Chitin synthase in the stipe of *Agaricus bisporus* (J. Lange) Imbach. *FEMS Microbiol. Lett.* 10: 43-47.

CRISAN E.V. and SANDS A., 1978 - Nutritional Value. *In*: CHANG S.T. & HAYES W.A., *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. New York & London, Academic Press: 137-168.

CRONIN D. and WARD M., 1971 - The characterization of some mushroom volatiles. *J. Sci. Food Agric.* 22: 477-479.

DELMAS J. et POITOU N., 1965 - Les substances azotées et plus particulièrement les acides aminés dans les champignons et les composts. *Mushroom Sci.* 6: 193-201.

DIEM K. and LENTNER C., 1970 - *Documenta Geigy Scientific Tables*, 7ème éd. Bâle, J.R. Geigy: 504-505.

DÜTSCH G.A. and RAST D., 1972 - Biochemische Beziehung zwischen Mannitbildung und Hexosemonophosphatzyklus in *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 11: 2677-2681.

ELLIOTT T.J., 1985 a - The General Biology of the Mushroom. *In*: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD., *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 9-22.

ELLIOTT T.J., 1985 b - The Genetics and Breeding of Species of *Agaricus*. *Ibidem* 111-129.

ENKE M., ROSCHIG M., MATSCHINER H. and ACHTZEHN M.K., 1979 - Uptake of lead, cadmium and mercury by cultivated mushrooms. *Nahrung* 23: 731-737.

FILIOS A.M. and ESSELEN W.B., 1946 - The riboflavin, nicotinic acid, panthotenic acid and biotin content of canned and cooked fresh mushrooms. *J. Amer. Diet. Assoc.* 22: 772-777.

FITZPATRICK W.H., ESSELEN W.B. and WEIR E., 1946 - Composition and nutritive value of mushroom protein. *Ibidem*, 22: 318-323.

FLEGG P.B. and WOOD D.A., 1985 - Growth and Fruiting. *In*: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD, *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 141-177.

FOSTER J.W., 1949 - Urea metabolism of fungi. *In*: J.W. FOSTER, *Chemical Activities of Fungi*. New York, Academic Press: 518-525.

FUJII S., KITANO K. and NODA M. 1982 - The sphingolipids of *Agaricus bisporus*. *Agric. Biol. Chem.* 46: 1717-1719.

GAZE R.H., 1985 - Cultivation Systems and their Evolution. *In*: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD, *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 23-41.

GERRITS J.P.J., 1969 - Organic compost constituents and water utilised by the cultivated mushroom during spawn run and cropping. *Mushroom Sci.* 7: 111-126.

GOULSTON G., MERCER E.I. and GOAD J.L., 1975 - The identification of 24-methylene -24,25-dihydrolanosterol and other possible ergosterol precursors in *Phycomyces blakesleeanus* and *Agaricus campestris*. *Phytochemistry* 14: 457-462.

GRIFFIN P.F.S., BRENNAN P.J. and LÖSEL D.M., 1970 - Free lipids and carbohydrates of *Agaricus bisporus* mycelium. *Biochem. J.* 119: 11-12.

GROVE J.F., 1981 - Volatile compounds of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 20: 2021-2022.

HAMMOND J.B.W., 1977 - Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus*: oxidative pathways in mycelium and sporophore. *J. Gen. Microbiol.* 102: 245-248.

HAMMOND J.B.W., 1979 a - Changes in composition of harvested mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Phytochemistry* 18: 415-418.

HAMMOND J.B.W., 1979 b - The role of non-structural carbohydrates in the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 10: 391-400.

HAMMOND J.B.W, 1981 - Variation in enzyme activity during periodic fruiting of *Agaricus bisporus*. *New Phytol.* 89: 419-428.

HAMMOND J.B.W., 1985 a - Glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Agaricus bisporus*: purification and properties. *J. Gen. Microbiol.* 131: 321-328.

HAMMOND J.B.W., 1985 b - Sugar, sugar phosphate and NADP(H) levels in *Agaricus bisporus* fruit bodies. *Ibidem* 131: 329-333.

HAMMOND J.B.W., 1986 - Carbohydrates and mushroom growth. *Mushroom J.* 165: 316-321.

HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1975 - Changes in respiration and soluble carbohydrates during the post-harvest storage of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Sci. Food Agric.* 26: 835-842.

HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1976 a - Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing.: changes in soluble carbohydrates during growth of mycelium and sporophore. *J. Gen. Microbiol.* 93: 309-320.

HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1976 b - Glycogen in *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 66: 325-327.

HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1979 - Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus*: changes in non-structural carbohydrates during periodic fruiting (flushing). *New Phytol.* 83: 723-730.

HÄNSELER E., NYHLEN L.E. and RAST D.M., 1983 - Isolation and properties of chitin synthase from *Agaricus bisporus* mycelium. *Exp. Mycol.* 7: 17-30.

HASHIDA W., MOURI T., SHIGA I. and TERAMOTO S., 1964 - Studies on nucleic acid related substances in food stuffs.(II) Distribution of 5'- nucleotides in edible mushrooms. *Hakko Kogaku Zasshi* 42: 434-441.

HAYES W.A. and HADDAD N.A., 1976 - The food value of the cultivated mushroom and its importance to the mushroom industry. *Mushroom J.* 40: 104-110.

HAYES W.A. and HAND P., 1981 - Vitamin B12 in substrates and fruit bodies of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 11: 177-181.

HAYES W.A. and NAIR N.G., 1975 - The Cultivation of *Agaricus bisporus* and Other Edible Mushrooms. *In*: J.E. SMITH & D.R. BERRY. *The Filamentous Fungi*. London, E. Arnold Ltd, I: 212-248.

HOLTZ R.B., 1971 - Qualitative and quantitative analyses of free neutral carbohydrates in mushroom tissue by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 19: 1272-1273.

HOLTZ R.B. and SCHISLER L.C., 1971 - Lipid metabolism of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. I. Analysis of sporophore and mycelial lipids. *Lipids* 6: 176-180.

HUGHES D.H., 1962 - Preliminary characterization of the lipid constituents of the cultivated mushroom *Agaricus campestris*. *Mushroom Sci.* 5: 540-546.

HUGHES D.H., LYNCH D.L. and SOMERS G.F., 1958 - Chromatographic identification of the amino acids and carbohydrates in the cultivated mushroom *Agaricus campestris* L. ex Fries. *J. Agric. Food Chem.* 6: 850-852.

HUGHES D.H. and RHODES Y.E., 1959 - Changes in the amino acid composition of *Agaricus campestris* with respect to successive crops. *Mushroom Sci.* 4: 176-182.

IWANOFF N.N., 1923 - Über den Harnstoffgehalt der Pilze. *Biochem. Z.* 136: 1-8.

JADOT J., CASIMIR J. et RENART M., 1960 - Séparation et caractérisation du L(+)-(p-hydroxy)anilide de l'acide glutamique à partir de *Agaricus hortensis*. *Biochim. Biophys. Acta* 43: 322-328.

KISSMEYER-NIELSEN E., Mc CLENDON J.H. and WOODMANSEE C.W., 1966 - Changes in amino acids and urea in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*, as influenced by nutrient supplementation of the compost during the growth cycle. *J. Agric. Food Chem.* 14: 633-636.

KONISHI M., 1967 - Growth promoting effect of certain amino acids on the *Agaricus* fruitbody. *Mushroom Sci.* 6: 121-134.

KOSSON R. and BAKOWSKI J., 1984 - The effect of cultivation on the amino acid and protein content of the mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.). *Nahrung* 28: 1045-1051.

KOSTELC J.G. and HENDRY L.B., 1981 - Hydrocarbon constituents from white strains of the mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Singer. *J. Agric. Food Chem.* 29: 185-186.

KREß M., 1986 - Nährwert und Bedeutung der Kulturspeisepilze in der modernen Ernährung. *Champignon (Erlangen)* 299: 20-33.

KRITSKII M.S. and KULAEV I.S., 1963 - Acid-soluble nucleotides of *Agaricus bisporus* L. fruiting bodies. *Biochemistry* 28(4): 570-564.

LATCHE J.-C., 1963 - Biosynthèse, par transamination, de l'alanine, des acides aspartique et glutamique et sur l'existence de la glutamique décarboxylase chez *Agaricus campestris. Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D,* 257: 2145-2147.

LATCHE J.-C., 1970 - Quelques aspects du métabolisme azoté du carpophore d'*Agaricus bisporus* Lge. Etude en fonction du phénomène des volées. Thèse Doct., Univ. Toulouse, France.

LENDENMANN J. and RAST D., 1978 - Glycogen in spores and mycelium of *Agaricus bisporus. Trans. Brit. Mycol. Soc.* 71: 146-148.

LE ROUX P., 1966 - Métabolisme de l'acétate 2-^{14}C dans le carpophore du champignon de couche (*Agaricus campestris* Fr. var. *bisporus*). *Ann. Physiol. Vég.* 8: 197-208.

LE ROUX P., 1967 - Importance relative de la voie des pentoses phosphates et de la glycolyse dans le carpophore d'*Agaricus bisporus. Ibidem* 9: 349-363.

LEVENBERG B., 1961 - Structure and enzymatic cleavage of agaritine, a phenylhydrazine of L-glutamic acid isolated from Agaricaceae. *J. Amer. Chem. Soc.* 83: 503-504.

LEWIS D.H. and SMITH D.C., 1967 - Sugar alcohols in fungi and green plants. I. Distribution, physiology and metabolism. *New Phytol.* 66: 143-184.

LI G.S.F. and CHANG S.T., 1982 - The nucleic acid content of some edible mushrooms. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 15: 237-240.

MAGGIONI A., PASSERA C., RENOSTO F. and BENETTI E., 1968 - Composition of cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) during the growing cycle as affected by the nitrogen source introduced in composting. *J. Agric. Food Chem.* 16: 517-519.

MANACHERE G., 1988 - Regulation of sporophore differentiation in some Macromycetes, particularly in *Coprini*: an overview of some experimental studies, from fruiting initiation to sporogenesis. *Cryptogamie, Mycol.* 9: 291-323.

MANNING K., 1985 - Food Value and Chemical Composition. *In*: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD. *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom.* Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 211-230.

MANNING K. and WOOD D.A., 1983 - Production and regulation of extracellular endocellulase of *Agaricus bisporus. J. Gen. Microbiol.* 129: 1839-1847.

Mc CONNELL J.E. and ESSELEN W.B., 1947 - Carbohydrates in cultivated mushrooms (*Agaricus campestris*). *Food Res.* 12: 118-121.

MICHALENKO G.O., HOHL H.R. and RAST D., 1976 - Chemistry and architecture of the mycelial wall of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 92: 251-262.

MINAMIDE T. and HAMMOND J.B.W., 1985 - The influence of the periodic fruiting (flushing) cycle on the biochemical development of *Agaricus bisporus* sporophores. *New Phytol.* 100: 571-578.

MOORE D., 1984 - Developmental biology of the *Coprinus cinereus* carpophore: metabolic regulation in relation to cap morphogenesis. *Exp. Mycol.* 8: 283-297.

NGUYEN T.T., PALCIC M.M. and HADZIYEV D., 1988 - Enzymatic formation of nucleotides and the flavour enhancer 5'-GMP during vegetable processing. Proc. Int. Conf. 1987 "Bioflavour '87": 275-286.

NOVAES-LEDIEU M. and MENDOZA C.G., 1981 - The cell wall of *Agaricus bisporus* and *Agaricus campestris* fruiting body. *Canad. J. Microbiol.* 27: 779-787.

OKA Y., KIRIYAMA S. and YOSHIDA A., 1973 - Sterol composition of fruits, marine algae, tea, coffee and cocoa. *Food Sci. Technol. Abstr.* 6: 47.

OKA Y., OGAWA T. and SASAOKA K., 1979 - Occurrence of L-saccharopine and γ-L- glutamylglycine in the mushroom *Agaricus bisporus*. *Agric. Biol. Chem.* 43: 1995-1996.

OKA Y., OGAWA T. and SASAOKA K., 1980 - Occurrence of N-(γ-L-glutamyl)-ethanolamine in the mushroom *Agaricus bisporus*. *Ibidem* 44: 1959-1960.

OKA Y., TSUJI H., OGAWA T. and SASAOKA K., 1981 - Quantitative determination of free amino acids and their derivatives in the common edible mushroom *Agaricus bisporus*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 27: 253-262.

PARANJPE M.S., CHEN P.K. and JONG S.C., 1978 - Phenolic and other organic compounds in morphologically different tissues of *Agaricus bisporus*. *Trans. Mycol. Soc. Japan.* 19: 169-180.

PARRISH G.K., BEELMAN P.B. and KNEEBONE L.R., 1976 - Relationship between yield and mannitol content during the crop cycle of cultivated mushrooms. *Hort. Sci.* 11: 32-33.

PIQUEMAL M., 1970 - Sur le métabolisme de l'acide glutamique, source d'azote et de carbone pour le mycélium d'*Agaricus bisporus* Lge. Thèse Doct., Univ. Toulouse, France.

PYYSALO H., 1976 - Identification of volatile compounds in seven edible fresh mushrooms. *Acta Chem. Scand.*, Ser. B, 30: 235-244.

PYYSALO H., 1978 - On the formation of the aroma of some northern mushrooms. *Mushroom Sci.* 10: 669-675.

RAST D., STÜSSI H., HEGNAUER H. and NYHLEN L.E., 1981 - Melanins. *In*: G. TURIAN & H.R. HOHL, *The Fungal Spore: Morphogenetic Controls.* London, Academic Press: 501-530.

REINBOTHE H. und TSCHIERSCH B., 1962 - Harnstoff Metabolismus bei Basidiomyceten.I. Zur Harnstoffbiosynthese in *Agaricus bisporus* Lange und *Lycoperdon perlatum* Pers. *Flora* 152: 423-446.

REINBOTHE H., WASTERNACK C. und MIERSCH J., 1967 - Harnstoff Metabolismus bei Basidiomyceten .IV. Untersuchungen zur Physiologie des Harnstoffs. *Ibidem* 158: 27-57.

ROSENTHAL G.A. and DAVIS D.L., 1975 - Reexamination of the reported occurrence of L-canavanine in *Agaricus campestris*. *Phytochemistry* 14: 1117-1118.

RUFFNER H.P., RAST D., TOBLER H. and KARESCH H., 1978 - Purification and properties of mannitol dehydrogenase from *Agaricus bisporus* sporocarps. *Ibidem* 17: 865-868.

SPERONI J.J., BEELMAN R.B. and SCHISLER L.C., 1983 - Factors influencing the agaritine content in cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*. *J. Food Protec.* 46: 506-509.

SCHÜTTE H.R., LIEBISCH H.W., MIERSCH O. und SENF L., 1972 - Untersuchungen zur Biosynthese des Agaritins in *Agaricus bisporus*. *Anales Quim.* 68: 899-903.

STÜSSI H. and RAST D., 1981 - The biosynthesis and possible function of γ-glutaminyl-4-hydroxybenzene in *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 20: 2347-2352.

SZENT-GYORGYI A., CHUNG R.H., BOYAJIAN M.J., TISHLER M., ARISON B.H., SCHOENEWALDT E.F. and WITTICK J.J., 1976 - Agaridoxine, a mushroom metabolite. Isolation, structure and synthesis. *J. Org. Chem.* 41: 1603-1606.

TURNER E.M., 1974 - Phenoloxidase activity in relation to substrate and development stage of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 63: 541-547.

VAN DER MEER M.A., 1987 - De samenstelling van de geteelde champignon I. *Champignoncultuur* 31: 331-347.

VARO P., LÄHELMÄ O., NUURTAMO M., SAARI E. and KOIVISTOINEN P., 1980 - Mineral element composition of Finnish foods. VII. Potato, vegetables, fruits, berries, nuts and mushrooms. *Acta Agric. Scand.*, Suppl. 22: 107-113.

VOGEL F.S. and WEAVER R.F., 1972 - Concerning the induction of dormancy in spores of *Agaricus bisporus*. *Exp. Cell Res.* 75: 95-104.

WEAVER J.C., KROGER M. and KNEEBONE L.R., 1977 - Comparative studies (Kjeldahl, dye binding, amino acid analysis) of nine strains of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach mushrooms. *J. Food Sci.* 42: 364-366.

WELLS T.K., HAMMOND J.B.W. and DICKERSON A.G., 1987 - Variations in activities of glycogen phosphorylase and trehalase during the periodic fruiting of the edible mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *New Phytol.* 105: 273-280.

WOOD D.A., 1979 - Biochemical changes during growth and development of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 10: 401-417.

WOOD D.A., 1980 a - Production, purification and properties of extracellular laccase of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 117: 327-338.

WOOD D.A., 1980 b - Inactivation of extracellular laccase of *Agaricus bisporus* during fruiting. *Ibidem* 117: 339-345.

WOOD D.A., 1985 - Production and roles of extracellular enzymes during morphogenesis of basidiomycete fungi. *In*: D.M. MOORE, *Developmental Biology of Agarics*. Symp. Ser., Brit. Mycol. Soc., Cambridge Univ. Press: 375-387.

WOOD D.A. and GOODENOUGH P.W., 1977 - Fruiting of *Agaricus bisporus*. Changes in extracellular enzyme activities during growth and fruiting. *Arch. Microbiol.* 114: 161-165.

WOOD D.A. and HAMMOND J.B.W., 1977 - Inhibition of growth and development of *Agaricus bisporus* by Polyoxin D. *J. Gen. Microbiol.* 98: 625-628.

Source : MNHN, Paris

ÉTUDE CRITIQUE ET VALIDATION DES ESPÈCES NOUVELLES D'*HYMENOCHAETE* DÉCRITES PAR G.A. ESCOBAR

J.C. LÉGER

Laboratoire de Mycologie, Université Claude Bernard - Lyon I, Bât. 405, 43 bd du 11 novembre 1918, F-69622 Villeurbanne Cedex.

RÉSUMÉ - Etude critique et validation des dix espèces nouvelles d'*Hymenochaete* décrites en 1978 par Escobar mais non publiées validement *(nom. inval.)*; parmi ces espèces *Hymenochaete dendroidea, nom. illegit.* est appelée *H. escobarii nov. sp.* et *Hymenochaete weldenii* est synonymisée avec *H. anomala* Burt. Deux sections proposées par Escobar sont validées, une est amendée; une section nommée *Paragymnochaete nov. sect.* est proposée.

ABSTRACT - The ten new species of *Hymenochaete* described by Escobar in 1978 without a valid publication *(nom. inval.)* are critically studied and validated. Among these species *Hymenochaete dendroidea, nom illegit.* is named *H.escobarii nov. sp.* and *H. weldenii* is placed in synonymy with *H. anomala* Burt. Two sections proposed by Escobar in the genus are validated, one is emended. A new section named *Paragymnochaete* is proposed.

MOTS CLÉS : *Hymenochaete*, systématique.

Dans le cadre d'une révision mondiale des espèces du genre *Hymenochaete*, l'auteur a pu étudier les espèces nouvelles décrites par G.A. Escobar dans un mémoire de Thèse soutenue devant l'Université de Washington (Etats-Unis) en 1978 et intitulé "Contributions towards a monograph of the neotropical species of Hymenochaete"; malheureusement ces espèces, ainsi que les trois sections proposées dans le genre, ne sont pas considérées comme valides selon les critères du Code international de nomenclature botanique puisque ces résultats n'ont pas été publiés. Le présent travail a donc un double objectif: permettre la validation des espèces et sections décrites par Escobar et d'autre part présenter une étude personnelle de ces espèces comprenant pour chacune une description et une discussion.

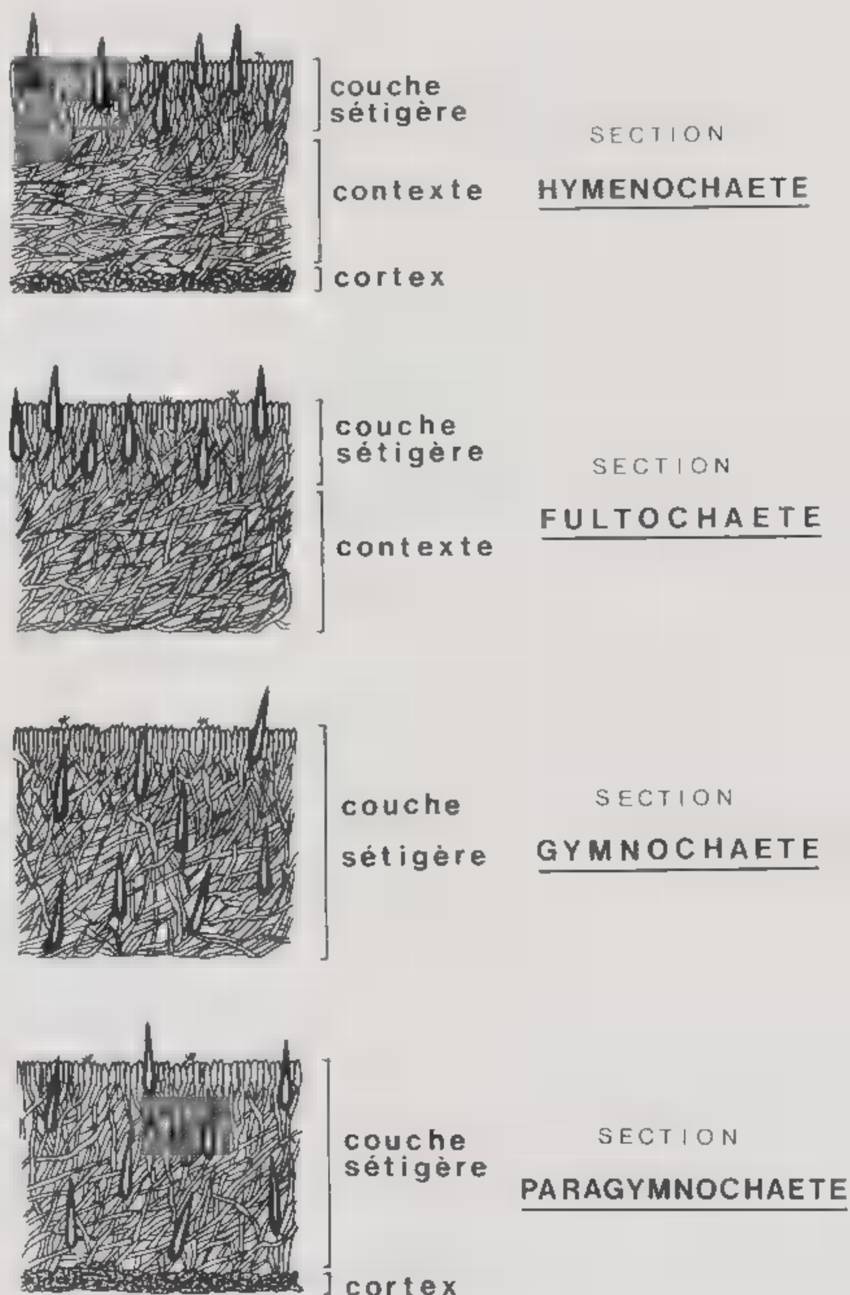


Fig. 1 - Représentation schématique de la structure des sections proposées dans le genre *Hymenochaete*.

Fig. 1 - Schematic representation of the structure of the sections proposed in the genus *Hymenochaete*.

LES SECTIONS DANS LE GENRE *HYMENOCHAETE*

C'est à Burt (1918) que revient le mérite d'avoir indiqué l'importance de la structure du basidiome dans l'étude des espèces du genre *Hymenochaete* et d'avoir utilisé l'anatomie pour les distinguer. Burt a défini ainsi un "degree of differentiation" de la structure: dans le cas le plus simple, la fructification présente des spinules (ou soies ou setae) réparties dans toute l'épaisseur du basidiome depuis la base jusqu'à l'hyménium; le basidiome est donc réduit à une couche sétigère; à un niveau supérieur de différenciation, la couche sétigère repose sur une couche dépourvue de spinules ("hyphal layer" de Burt); enfin dans l'état le plus complexe d'organisation, la couche hyphale est elle-même différenciée en une couche intermédiaire et une zone plus dense et plus sombre (qui sera nommée ultérieurement cortex ou cuticule). Les espèces étudiées par Burt (37 dont 10 nouvelles) se trouvent ainsi réparties en 3 groupes suivant l'organisation de leur structure interne.

G.H. Cunningham (1957) reprend le découpage de Burt en créant des sections qu'il désigne par I, II et III.

Escobar (1978) propose d'établir de façon formelle ces sections en leur donnant un nom:
sect. Gymnochaete pour les espèces présentant une couche sétigère reposant directement sur le support (que ces espèces aient ou non un cortex).
sect. Fultochaete pour les espèces sans cortex dont la couche sétigère est portée par une couche hyphale dépourvue de spinules (Escobar nomme contexte cette couche sans spinules).
sect. Hymenochaete pour les espèces pourvues d'une couche sétigère reposant sur un contexte et montrant un cortex.

Ces sections n'ayant pas été publiées validement sont reconnues et décrites ici. L'une d'entre elles, la section *Gymnochaete* est amendée et cet amendement entraîne la création d'une section nouvelle nommée *Paragymnochaete*. Une représentation schématique des structures de chacune des 4 sections que nous proposons est donnée Fig. 1.

HYMENOCHAETE Lév. sect. *Hymenochaete:*

Cortex (= cuticule) présent formé d'hyphes très serrées, souvent cimentées, très généralement sombres. Couche sétigère reposant sur un contexte (= couche d'hyphes dépourvue de spinules).
Type: *Hymenochaete rubiginosa* (Dicks.: Fr.) Lév. (Léveillé, 1846).
Basionyme: *Helvella rubiginosa* Dicks.

HYMENOCHAETE Lév. sect. *Fultochaete* Escobar ex Léger:

Contexto praesenti; strato setoso super contexto insidenti; cuticula absenti. Typus: Hymenochaete damaecornis (Link ex Fries) Léveillé.
Basionyme: *Stereum damaecorne* Link. (Escobar, 1978: 20).
Contexte présent; couche sétigère reposant sur un contexte; cuticule (= cortex) absente.
Nous acceptons cette section sans modification.

HYMENOCHAETE* Lév. sect *Gymnochaete* Escobar ex Léger *emend.

Stratum setosum super substrato insidens; contextus et cortex (= cuticula) absentes.
Typus: Hymenochaete corrugata (Fr.) Lév. (Lèveillé, 1846).
Basionyme: *Thelephora corrugata* Fr.
Couche sétigère reposant sur le substrat; contexte et cortex (= cuticule) absents.
De la section créée par Escobar nous excluons les espèces possédant un cortex pour lesquelles est proposée la section *Paragymnochaete.*

HYMENOCHAETE* Lév. sect. *Paragymnochaete nov. sect.:

Stratum setosum super substrato insidens; contextus absens; cortex (= cuticula) praesens.
Typus: Hymenochaete sphaerospora Lég. et Lanq. (Léger & Lanquetin, 1987).
Couche sètigère reposant sur le substrat; contexte absent; cortex (=cuticule) présent.

ÉTUDE DES ESPÈCES NOUVELLES D'*HYMENOCHAETE* DÉCRITES PAR ESCOBAR

Note: dans nos descriptions personnelles, le terme contexte désigne une couche hyphale dépourvue de spinules et le terme trame désigne l'ensemble des parties du basidiome visibles sur une coupe transversale, à l'exception de l'hyménium. Nous suivons donc la terminologie utilisée par Escobar.

Hymenochaete aberrans Escobar ex Léger

Hymenochaete aberrans Escobar, Contr. Hymenoch.: 29, Fig. 1, 2, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Brazil, B.V. Skvortzov 301 (WTU).

- Diagnose:
"Basidiocarpo resupinato, velutino vel cereo, in sicco Brunneo-aurantiaco (6C4) vel "Cognac" (6E7); hymenio laevi; margine gradatim decrescenti. Trama 40-90µm crassa; ex hyphis intertextis 3-4µm crassis; cuticula absenti. Strato setoso super substrato insidenti, 75-180µm crasso, ex setis numerosis dispersis constanti; setis lanceolatis, nudis vel in parte vaginatis, 75-130 x 7,5-11µm, usque ad 90µm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis subcylindricis vel clavatis, tetrasporis, 12-17 x 4-5µm; sporis brevi-ellipticis, 5-6,5 x 3-3,5µm. Holotypus B.V. Skvortzov 301 *in herbario Universitatis Washingtonii conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: l'adjectif *aberrans* (aberrant, qui sort de la norme) a vraisemblablement été choisi pour souligner le contraste entre le basidiome mince et les spinules très grandes.

- Description personnelle (Fig. 2):
Basidiome résupiné, adhérent, lisse, très mince (40-75µm), brun pâle légèrement orangé à cannelle terne (7,5 YR 6/6 du Code Munsell), à marge amincie, concolore.

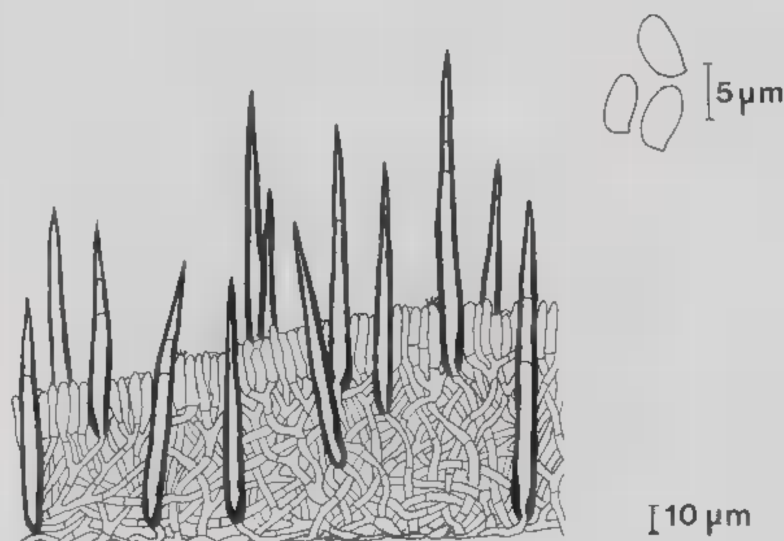


Fig. 2 - *Hymenochaete aberrans* Esc. ex Lég. (paratype, Escobar 5134). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 2 - *Hymenochaete aberrans* Esc. ex Lég. (paratype, Escobar 5134). Transverse section through the basidiocarp.

Trame monomitique formée d'hyphes brun-jaune clair x 4-4,5-(5)μm, ramifiées et septées, enchevêtrées en tous sens, à paroi légèrement épaissie et dont les ramifications verticales de même diamètre mais à paroi mince constituent l'hyménium. Ni contexte, ni cortex, ni tomentum. Spinules lancéolées, élancées, aiguës, assez nombreuses, dispersées dans toute la hauteur du basidiome depuis la base, 80-120 x 7,5-9μm, assez souvent septées de 1-3 cloisons minces, nues ou entourées de quelques hyphes hyalines grêles (x 1-1,5μm), dépassant l'hyménium de 90μm maximum.
Hyménium formé de basidioles et de basides légèrement clavées, 12-18 x 4-5μm, à 4 stérigmates de 3-4μm.
Spores elliptiques, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 5-6 x 2,5-3,2μm.

- Spécimens examinés: les deux seules récoltes citées par Escobar,
"*H. aberrans* Escobar, *nov. sp.* Brazil: Parque do Estado, Instituto de Botanica, Estado de Sao Paulo, 1970, B.V. Skvortzov 301. Holotype." (WTU).
"*H. aberrans* Escobar, *nov. sp.* El Salvador: Finca Las Piletas, 1km NW of Santa Ana, Dpto. de Santa Ana, 27 july 1973, G.A. Escobar 5134. Paratype." (NY).
A noter que l'holotype est de très petite taille tandis que le paratype est un très beau spécimen mais dont la base est localement envahi par des Dématiacées.

- Répartition géographique: Brésil, Salvador.

- Discussion: *Hymenochaete aberrans* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Gymnochaete* Esc. ex Lég. *emend.*
- est bien caractérisé par les longues spinules élancées, très exsertes, associées à un basidiome très mince.
- présente une ressemblance certaine avec *Hymenochaete innexa* G.H. Cunn. (à spinules plus courtes, 55-80µm et n'émergeant que de 65µm au plus) et surtout avec *Hymenochaete hauerslevii* Léger, espèce immédiatement reconnaissable cependant à ses pseudoacanthophyses hyméniennes.

Hymenochaete alabastrina **Escobar ex Léger**

Hymenochaete alabastrina Escobar, Contr. Hymenoch.: 33, Fig. 3, 4, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Brazil, B.V. Skvortzov 85 (WTU).
= *Hymenochaete ceratophora* Job, *Revista Invest. Agropecu., Ser. 5, Patol. Veg.* 9 (20): 146, 1985.

- Diagnose:
"Basidiocarpo resupinato, cereo, in sicco aurantiaco-cinereo (5B2); hymenio laevi vel tuberculato; margine gradatim decrescenti. Trama 25-75µm crassa; ex hyphis intertextis 1-2,5µm crassis; cuticula absenti. Strato setoso super substrato insidenti in basidiocarpis normalibus, 55-140µm crasso, ex setis ordinate dispositis stratum singulare fascientes; setis lanceolatis, nudis vel vaginatis, 50-90 x 5,5-9µm, usque ad 60µm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis clavatis, tetrasporis, 10-14 x 4-4,5µm; sporis brevi-ellipticis vel suballantoideis, 4-5,5 x 2-2,5µm. Holotypus B.V. Skvortzov 85 *in herbario Universitatis Washingtonii conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: *alabaster* = couleur d'albâtre.

- Description personnelle (Fig. 3):
Basidiome résupiné, adhérent, mince (70-180µm), aride, gris clair légèrement rosâtre (7,5 YR 7/2 du Code Munsell), lisse à tuberculé (mais la minceur du basidiome qui s'est développé sur une écorce grenue explique l'aspect tuberculé). Marge amincie, concolore.
Trame dimitique contenant des masses cristallines (atteignant 30 x 15µm) et formée d'hyphes enchevêtrées assez lâchement en tous sens: hyphes génératrices hyalines à paroi mince, abondamment ramifiées et septées, souvent anastomosées entre elles, x 2-3µm; hyphes squelettiques de type dichofibres, jaune clair, à paroi épaissie, non septées, x 2,5-3-(4)µm, pourvues d'assez nombreuses mais courtes ramifications dont certaines atteignent l'hyménium; elles affleurent mais ne dépassent presque jamais l'hyménium. Contexte, tomentum et cortex absents.
Spinules disposées dans toute la hauteur du basidiome mais naissant souvent du sous-hyménium, assez espacées, lancéolées, aiguës, très souvent engainées d'hyphes grêles et hyalines, 60-105 x (6)-8-10µm et émergeant jusqu'à 60µm au-dessus de l'hyménium.
Hyménium formé, outre les abondantes ramifications des dichofibres, de basidioles et de basides claviformes 12-15 x 3-4µm, à 4 stérigmates grêles de 4,5-5µm de long.

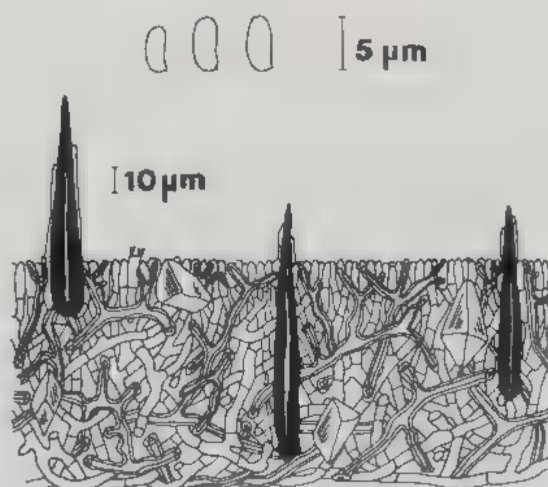


Fig. 3 - *Hymenochaete alabastrina* Esc. ex Lég. (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 3 - *Hymenochaete alabastrina* Esc. ex Lég. (holotype). Transverse section through the basidiocarp.

Spores cylindriques un peu déprimées à suballantoïdes, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 4-5-(5,5) x 2-2,5-(2,8)µm.

- Spécimens examinés: les trois récoltes citées par Escobar, "*H. alabastrina* Escobar *sp. nov.* Fungi of Brazil. Parque do Estado, Instituto de Botanica, Estado de Sao Paulo, 1970": B.V. Skvortzov 85 (WTU, holotype), 84 (NY, paratype), 278 (WTU, paratype). Spécimens abondants et en excellent état.

- Répartition géographique: Brésil, Argentine.

- Discussion: *Hymenochaete alabastrina* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Gymnochaete* Esc. ex Lég. *emend.*; ce point ne souffre aucune discussion et nous nous étonnons des termes employés par Escobar tant dans sa diagnose latine ("*in basidiocarpis normalibus*") que dans la description ("setigerous layer normally seated on the substratum"). Faut-il comprendre qu'il existerait des basidiomes anormaux (sous-entendu: basidiomes avec contexte bien développé)? ... rien dans ce que nous avons observé ne porte à le croire.
- est bien caractérisé par sa couleur claire, son dimitisme avec hyphes squelettiques (dichofibres) dont les ramifications forment, au niveau de l'hyménium, des hyphes paraphysoïdes 1-2 fois ramifiées (donc bien moins ramifiées que des vraies dichophyses) et la présence de cristaux dans la trame; ces deux derniers caractères n'ont pas été observés par Escobar.

Remarque: Nous avons pu étudier un fragment du type de *H. ceratophora* Job (Parque Nacional Iguazù, Misiones, Argentina, 1/III/1982, leg. Wright, BAFC 28292). Ce spécimen est en tous points identique à *H.*

alabastrina à l'exception de la couleur de la surface hyménienne qui est jaunâtre ce qui nous paraît une différence insuffisante pour justifier la création d'une espèce nouvelle; nous plaçons donc *H. ceratophora* en synonyme de *H. alabastrina*.

***Hymenochaete crustacea* Escobar ex Léger**

Hymenochaete crustacea Escobar, Contr. Hymenoch.: 76, Fig. 23, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Costa Rica, A.L. Welden 3278 (NO).

- Diagnose:
"Basidiocarpo resupinato, crustaceo, cereo vel lignoso, crasso, in sicco Brunneo-cinereo (6C2) vel Griseo-brunneo (7D3) ad centro et concoloro vel Griseo-aurantiaco (6B5) ad margine; hymenio laevi, radiatim rimoso ad centro; margine abrupto. Trama 350-1600µm crassa, ex hyphis agglutinatis 2,5-5µm crassis; cuticula absenti. Strato setoso super substrato insidenti, 370-1630µm crasso, e stratis numerosis et imbricatis ex setis dense compactis: setis lanceolatis, nudis, 30-70 x 5-8µm, usque ad 35µm eminentibus. Hymenio ex hyphis, basidiis et basidiolis constanti; hyphis filiformibus, usque ad 2µm crassis; basidiis clavatis, tetrasporis, 12-17 x 4-5,5µm; sporis obovatis, 4-5 x 2,5-3,5µm. Holotypus A.L. Welden 3278 *in herbario Universitatis Tulanei conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: *crustaceus* = formant une croûte, encroûtant.

- Description personnelle (Fig. 4):
Basidiome résupiné, formant une croûte brun rougeâtre (5 YR 4,5/4 du Code Munsell), tuberculé et craquelé radialement, à bordure concolore ou légèrement plus claire, à marge se terminant de façon très abrupte.
Trame monomitique de 200 à 1200µm d'épaisseur formée d'hyphes verticales, très serrées, collapsées-agglutinées, à paroi légèrement épaissie, ramifiées et abondamment cloisonnées (articles courts de 4 à 6µm de long), x 2-4µm, et contenant de nombreux amas cristallins (20-25 x 15-20µm). Ni contexte, ni cortex, ni tomentum.
Spinules depuis la base, lancéolées, peu pointues, nues ou plus souvent engainées d'hyphes grêles (x 1,5-2µm), 35-50 x (4)-6-7-(9)µm, émergeant de 25-(30)µm au-dessus de l'hyménium.
Hyménium constitué de basidioles, d'hyphes paraphysoïdes simples (x 2µm) et de basides clavées 13-18 x 4-5µm, à 4 stérigmates de 4µm.
Spores subovoïdes, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 4-5 x 3-3,5µm.

- Spécimen examiné:
"*H. crustacea* Escobar *sp. nov.* Venezuela. Trail from Los Pocitos, 1,5 hours walking towards Santa Isabel, NW Irapa, Estado Sucre. Coll. K.P. Dumont, R.F. Cain, G.J. Samuels, G. Morillo and J. Farfan, 11 july 1972, VE-4704, paratype." (NY).
C'est, outre l'holotype, la seule récolte de cette espèce.

- Répartition géographique: Costa Rica, Vénézuela.

- Discussion: *Hymenochaete crustacea* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Gymnochaete* Esc. ex Lég. *emend.*

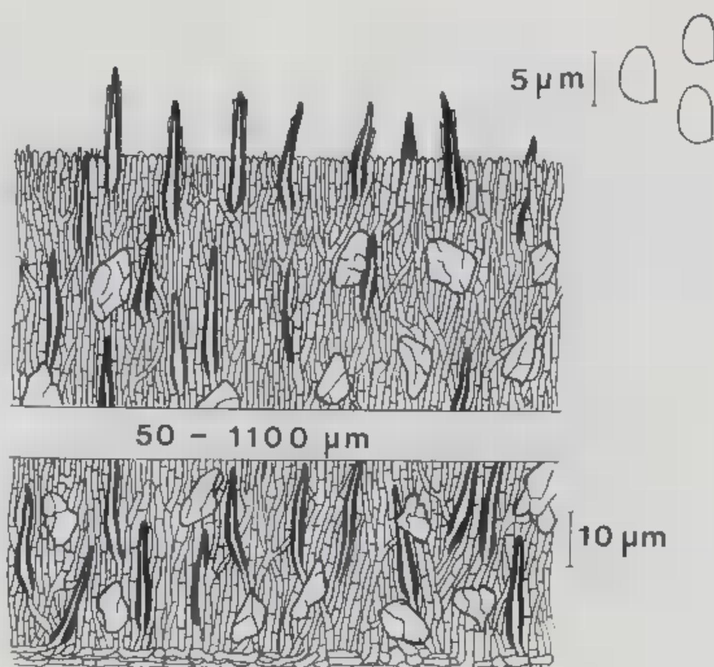


Fig. 4 - *Hymenochaete crustacea* Esc. ex Lég. (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 4 - *Hymenochaete crustacea* Esc. ex Lég. (holotype). Transverse section through the basidiocarp.

- est caractérisé à la fois par son aspect externe (surface craquelée radialement et marge très abrupte) et sa microscopie: spinules de taille moyenne, trame d'hyphes agglutinées et nombreux cristaux, hyphes paraphysoïdes simples et spores subovoïdes.
- est à rapprocher, par de nombreux points (basidiome épais, jusqu'à 1600µm selon Escobar, taille et forme des spinules et des spores) de *H. lignosa* G.H. Cunn. Cette espèce appartient à la section *Fultochaete* et montre un basidiome presque noir, à surface non fendillée et très épais (jusqu'à 0,8-1cm).

Hymenochaete escobarii nov. sp.

= *Hymenochaete dendroidea* Escobar, Contr. Hymenoch.: 92, Fig. 27, 1978, *nom. inval. et illegit., non H. dendroidea* Berk. et Br. (attribué à Berk. et Curt.) = *Sebacina dendroidea* (Berk. et Br.) Lloyd.
Holotype: Venezuela, J.A. Steyermark et J.J. Wurda 1115 (NY).

- Diagnose:
"Basidiocarpo sessili-pileato, circulari, pendulo et confluenti, coriaceo, in sicco fragili, pileo usque ad 2,5cm lato; pagina adaxiali sericea, zonata, in sicco

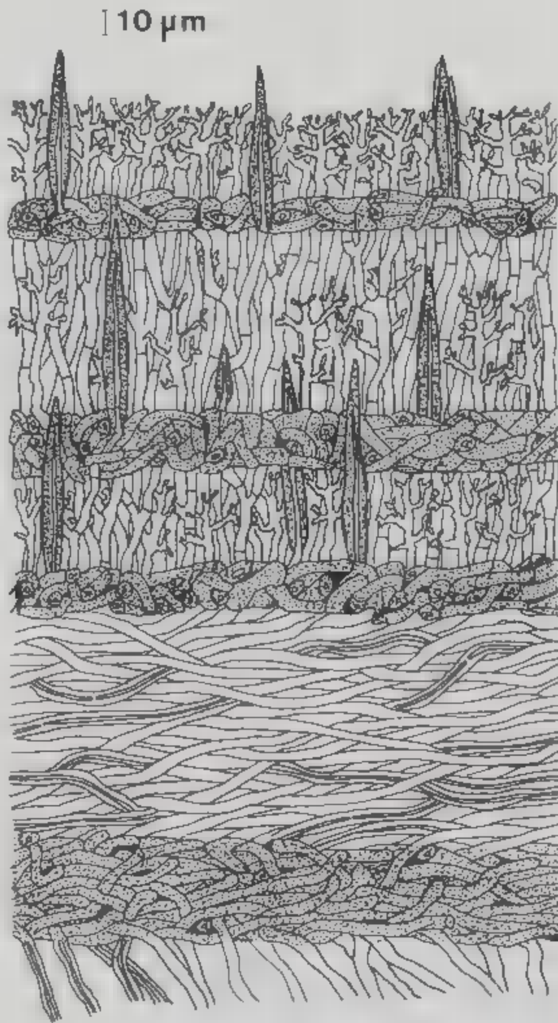


Fig. 5 - *Hymenochaete escobarii nov. sp.* (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 5 - *Hymenochaete escobarii nov. sp.* (holotype). Transverse section through the basidiocarp.

Brunneo-pallida (7D4) vel "Somalis" *(7E5); hymenio laevi vel corrugato, in sicco Brunneo-cinereo (6C3) vel* "Caramel brown" *(6C6). Trama 300-500µm crassa, ex hyphis intertextis 2-2,5µm crassis; cuticula praesenti, ex hyphis fuscatis et dense compactis. Strato setoso super contexto insidenti, 100-350µm crasso, ex massis irregularibus crystallinis et 2-5 stratis discretis ex setis ordinate dispositis; setis lanceolatis, nudis vel vaginatis, (30)-50-80 x (4)-6-8µm, usque ad 40µm eminentibus. Hymenio ex dendrophysibus, basidiis et basidiolis constanti; dendrophysibus usque ad 2,5µm crassis; basidiis et sporis*

non inventis. Holotypus J.A. Steyermark *et* J.J. Wurdack 1115 *in herbario Horto Botanico Novi-Yorkii conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: espèce que nous dédions à G.A. Escobar.

- Description personnelle (Fig. 5):
Basidiome à chapeau sessile, circulaire, confluent, cassant sur le sec, atteignant environ 2,5cm de large et 600μm d'épaisseur. Face supérieure du chapeau très sillonnée, brun assez vif dans l'ensemble, les stries les plus sombres brun-rouge foncé (2,5 YR 2/4 -3/4 du Code Munsell = chesnut brown de Ridgway), les plus claires bai brunâtre (2,5 YR 4/4 = Mars brown R.). Marge concolore, lobée. Face hyméniale rouge brique claire à testacée (2,5 YR 5/4, 6/4, 6/6 = de Army brown à vinaceous Fawn R.) ou bai ferrugineux YR 5/4 = Mikado brown R.), à la fois sillonnée concentriquement et très contournée, tourmentée, parfois avec quelques verrues, le point d'attache se manifestant sur cette face hyméniale par un ombilic.
Trame monomitique de 300-600μm d'épaisseur, comprenant:
- une couche sétigère de 100 à 300μm d'épaisseur, stratifiée: chacune des 4 ou 5 strates débute à la base par une zone sombre de 20-30μm d'épaisseur, formée d'hyphes x 2,5-3,5μm., à paroi très épaisse, fortement enchevêtrées, évoquant un cortex. Cette zone est surmontée d'une couche faite d'hyphes verticales, x 2-2,5 μm, à paroi un peu épaissie, bien ramifiées et septées, et surtout de très nombreuses dendrophyses ainsi que de spinules assez espacées. Des masses cristallines sont visibles çà et là.
- un contexte de 60-130μm, formé d'hyphes parallèles à la surface, à paroi très épaisse, septées, peu ramifiées, x 2,5-3-(4)μm.
- un cortex de 25 à 80μm d'épaisseur, formé d'hyphes à paroi très épaisse, très serrées et orientées à peu près parallèlement à la surface, x 2,5-3,5μm.
- un tomentum (70-120μm) d'hyphes brun jaune, septées, à paroi épaisse, x 3-4μm.
Spinules lancéolées, élancées, 30-75 x 4-8μm, nues ou plus souvent engainées d'hyphes grêles (x 1-1,5μm), émergentes jusqu'à 30-(40)μm. Elles naissent de la zone sombre de chaque strate de la couche sétigère; çà et là se rencontrent, nées également de cette zone sombre, quelques très petites spinules (environ 15 x 3μm).
Dendrophyses nombreuses, x 1,5-2,5μm.
Hyménium absent: ni basides ni spores observées.

- Spécimen examiné:
"The New York Bot. Gard. Chicago Natural History Museum Expedition. Chimanta Massif. Toronto-tepui, Estado Bolivar, Venezuela. N°1115. South-facing forested shapes above valley of South Cano, on summit. Alt. 1955-2090 meters. Feb. 23, 1955. Coll. J.A. Steyermark, J.J. Wurdack. *Hymenochaete dendroidea* Escobar, *sp. nov.*, holotype." (NY).
Cette espèce n'est connue que par le spécimen type.

- Répartition géographique: Vénézuela.

- Discussion: *Hymenochaete escobarii nov. sp.*
- appartient à la section *Hymenochaete*.
- est aisément reconnaissable car il s'agit de la seule espèce de cette section qui possède à la fois un basidiome à chapeau et des dendrophyses. *H.*

cruenta (Pers. ex Fr.) Donk, à port essentiellement résupiné à étalé-réfléchi, présente aussi des dendrophyses et peut former parfois, localement, quelques très petits chapeaux (de 1-4mm selon Jahn, 1971) mais sa microscopie et la couleur rouge de sa surface permettent une distinction aisée.

***Hymenochaete globispora* Escobar ex Léger**

Hymenochaete globispora Escobar, Contr. Hymenoch.: 104, Fig. 31, 32, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Columbia, Dumont- CO 899 (NY).

- Diagnose:

"Basidiocarpo resupinato, cereo vel velutino, facile separabili ex substrato, in sicco "Camel" *(6D4) vel* "Cocoa Brown" *(6E6) ad centro et concoloro aut Aurantio pallido (5A4) vel Cinereo-aurantiaco (5B4) ad margine; hymenio laevi vel tuberculato; margine gradatim decrescenti. Trama 180-350µm crassa, ex hyphis intertextis 2,5-3µm crassis; cuticula praesenti, ex hyphis fuscatis et dense compactis. Strato setoso super contexto insidenti, 130-180µm crasso, ex setis numerosis dispersis constanti; setis lanceolatis, nudis vel vaginatis, vulgo cum crystallis dispersis, 50-125 x 6,5-10µm, usque ad 95µm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis clavatis, bisporis vel tetrasporis, 13-17 x 5-6.5µm; sporis globis, 4-5.5µm diametro. Holotypus* K.P. Dumont, J.H. Haines, J.M. Idrobo *et* L.F. Velasquez CO 899 *in herbario Botanico Novi-Yorkii conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: *globisporus* = à spores globuleuses.

- Description personnelle (Fig. 6):

Résupiné, épais de 200-650µm, facilement séparable du support, à surface tuberculée, brun rouge foncé (5 YR 3,5/4 du Code Munsell = *spadiceus* Fr.) ou plus clair et moins rouge (7,5 YR 5,5/4 soit un plus sombre que avellaneous Ridgway). Marge amincie, 0,5-2mm, jaune orangé clair (10 YR 6/8 = yellow ocher R., mais pâle) à jaune pâle (10 YR 8/6 = *alutaceus* Fr.), localement concolore, ternissant avec l'âge.
Trame monomitique comprenant de bas en haut:
- un tomentum ras (30-50-(100)µm), formé d'hyphes jaunes à paroi épaisse, septées, x 3µm.
- un cortex (25-40µm) brun rouge sombre constitué d'hyphes à paroi très épaisse, fortement enchevêtrées-agglutinées, x 3-3,5µm.
- un contexte d'hyphes brun jaune à paroi épaissie, septées et ramifiées, assez densément enchevêtrées en tous sens mais à orientation d'ensemble plutôt parallèle au support, x 2,5-3µm.
- une couche sétigère pouvant atteindre 150µm, avec spinules réparties uniformément entre des hyphes verticales, brunes, assez serrées, à articles courts, x 4-5µm.

Spinules lancéolées, engainées d'hyphes hyalines (x 2µm), avec quelques petits cristaux vers le sommet, 55-110 x 7-11-(15)µm, dépassant l'hyménium de 80µm.
Hyménium formé de basidioles assez larges (x 4-5µm) et de basides 15-18 x 4,5-5,5µm, à 4 stérigmates de 3-4µm. Présence de cristaux dans l'hyménium et le sous-hyménium, ce dernier plus sombre.

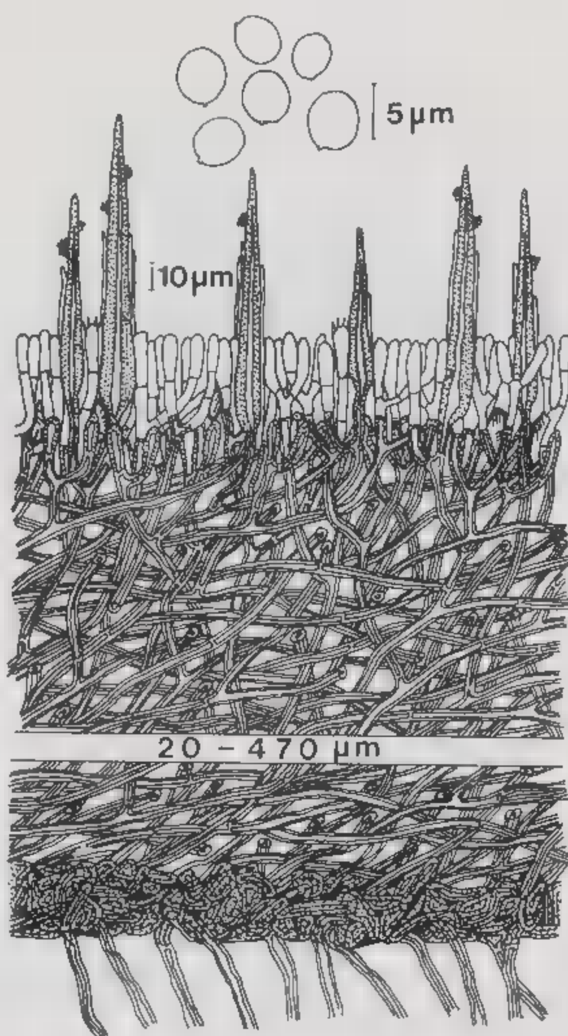


Fig. 6 - *Hymenochaete globispora* Esc. ex Lég. (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 6 - *Hymenochaete globispora* Esc. ex Lég. (holotype). Transverse section through the basidiocarp.

Spores globuleuses, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 4-5,5-(6)μm de diamètre.

- Spécimens examinés:

"Fungi of Columbia. N° Dumont-CO 899. *H. globispora* Escobar, *sp. nov.* On unidentified branch. Vicinity km 44 from Fomeque, road between Calera and Fomeque, Dpto. Cundinamarca. Coll. K.P. Dumont, J.H. Haines, J.M.

Idrobo, L.F. Velasquez, 9 july 1974. *Det.* G.A. Escobar, 4/11/1978. Holotype." (NY).
"Fungi of Peru. N° Dumont-PE 1366. *H. globispora* Escobar, *nov. sp.* On undet. wood. Ca. 143km from Huancayo, on the Huancayo-Satipo Rd., Dpto. Junin. Elev. 10000 ft. Coll. K.P. Dumont, S.E. Carpenter, M.A. Sherwood, P. Buritica, 9 july 1976. *Det.* G.A. Escobar 4/23/78. Paratype." (NY).
Ce sont les deux seules récoltes connues de cette espèce.

- Répartition géographique: Colombie, Pérou.

- Discussion: *Hymenochaete globispora* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Hymenochaete*.
- est très bien caractérisé par ses spores globuleuses. Parmi toutes les espèces du genre, seul *Hymenochaete sphaerospora* Lég. et Lanq. montre également des spores d'une telle forme mais présente par ailleurs plusieurs caractères permettant une distinction aisée (couleur gris clair du basidiome, deux groupes de spinules selon leur taille, très grandes basides, spores légèrement plus grandes et surtout appartenance à la section *Paragymnochaete*).

***Hymenochaete lenta* Escobar ex Léger**

Hymenochaete lenta Escobar, Contr. Hymenoch.: 112, Fig. 35, 36, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Costa Rica, A.L. Welden 2957 (NO).

- Diagnose:
"*Basidiocarpo sessili-pileato, flabelliformi vel dimidiato, coriaceo, lento, in sicco fragili, pileo usque ad 5,5cm lato; pagina adaxiali sericea vel tomentosa, nitida, cum pilis in cursu radialibus, zonata, in sicco* "Raw Sienna" *(6D7) vel* "Cocoa brown" *(6E6); hymenio laevi vel corrugato, in sicco Aurantiaco-griseo (5B2) vel Brunneo-aurantiaco (6C4). Trama 200-500μm crassa, ex hyphis intertextis 3-6μm crassis; cuticula praesenti, ex hyphis fuscatis et dense compactis. Strato setoso super contexto insidenti, 50-110μm crasso, ex setis numerosis dispersis constanti; setis lanceolatis, aliquando cilindrico-ventricosis, apice vulgo cum crystallis minutis obtecto, 45-65 x (7,5)-8,5-16-(20)μm, usque ad 30μm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis clavatis, tetrasporis, 9-12 x 3,5-4μm; sporis allantoideis, 4-5 x 1-1,5μm. Holotypus* A.L. Welden 2957 *in herbario Universitatis Tulanei conservatus.*" (Escobar, 1978).

- Etymologie: *lentus* = souple, flexible.

- Description personnelle (Fig. 7 et 8) :
Basidiome à chapeau sessile flabelliforme ou dimidié, mince (200-600μm) et souple mais coriace et cassant sur le sec, atteignant 5,5cm de diamètre. Face supérieure du chapeau légèrement soyeuse mais terne, à tomentum peu développé formé de poils appliqués radialement, avec quelques grands sillons concentriques irréguliers, de couleur cannelle (7,5 YR 5/6 à 6/6 du Code Munsell). Surface hyménienne bosselée irrégulière avec quelques plis en relief faible correspondant à ceux de la face supérieure du chapeau, de couleur gris-brun clair (7,5 YR 6/4 = avellaneous Ridgway) à gris-brun

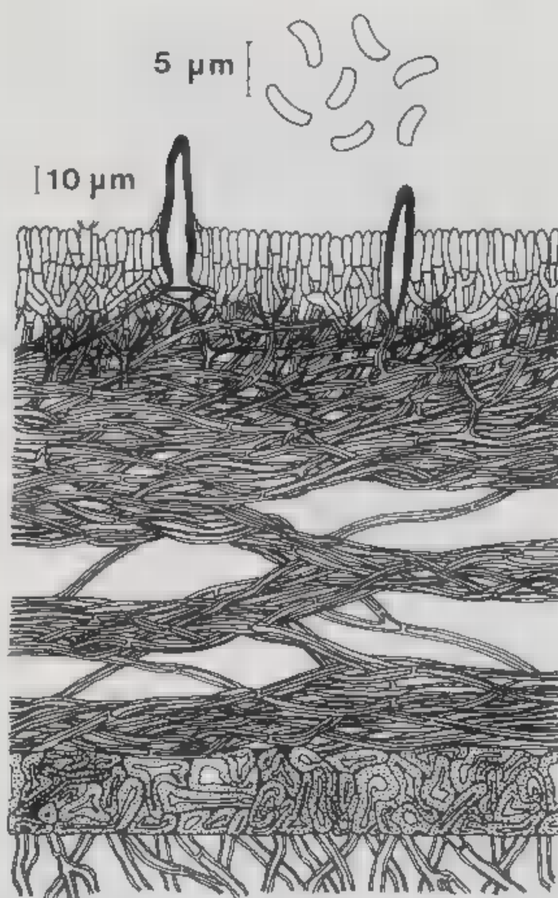


Fig. 7 - *Hymenochaete lenta* Esc. ex Lég. (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 7 - *Hymenochaete lenta* Esc. ex Lég. (holotype). Transverse section through the basidiocarp.

orangé clair (5 YR 6/3 à 6/4 = Fawn R.), un peu plus claire sur le centimètre de bordure.
Trame monomitique comprenant de bas en haut:
- un tomentum (150-300μm) formé d'hyphes brun jaunâtre, à paroi légèrement épaissie, septées et ramifiées, x 3,5-6,5μm.
- un cortex très marqué (15-40μm) d'hyphes brun rouge vif, à paroi très épaisse, enchevêtrées et agglutinées, x 4-5,5μm; cette couche évoque un puzzle.
- un contexte (100-300μm) d'hyphes jaune clair ou translucides, à paroi mince ou épaissie, septées et ramifiées, orientées parallèlement à la surface, x 2,5-4,5μm. Au sommet du contexte (côté hyménien), les hyphes sont serrées entre elles, créant une zone dense de (60)-80-(120)μm; le reste du contexte,

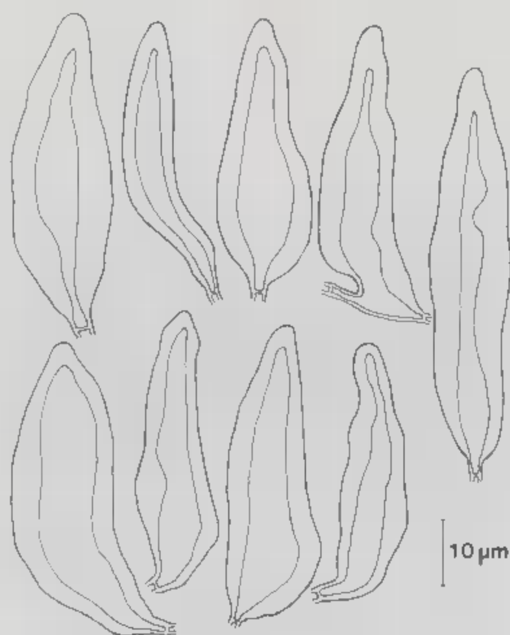


Fig. 8 - *Hymenochaete lenta* Esc. ex Lèg. (holotype). Spinules.

Fig. 8 - *Hymenochaete lenta* Esc. ex Lég. (holotype). Setae.

(40)-100-(200)µm, a un aspect curieux: les hyphes ont une nette tendance à se grouper par 4-8 pour former des cordons entre lesquels se trouvent des plages très claires car presque dépourvues d'hyphes.
Spinules peu serrées à espacées (1-5 spinules sur une section de 100µm), la plupart difformes, très obtuses, souvent ventrues, à lumière importante (jusqu'à 10µm), certaines avec un petit capuchon de cristaux, 40-55-(60) x (7)-9-15-(16,5)µm, entourées d'hyphes à la base, exsertes jusqu'à 35µm mais souvent moins (10-15µm).
Hyménium de basidioles et de basides 14-16 x 2-3µm à 4 stérigmates étroits de 4µm de long.
Spores allantoïdes étroites, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 4-5 x 1-1,5µm.

- Spécimen examiné:
"Fungi of Costa Rica n° 7160. *H. luteo-badia* (Fr.) H. et L. Woods below volcan Poas, 2700m elevation. 21.1.1968. *Leg.* A.L. Welden 2957. *Det.* A.L. Welden. *Hymenochaete lenta* Escobar, *sp. nov.* (Holotype). Annotated by G.A. Escobar, Mar. 21, 1978." (NO).
C'est la seule récolte de cette espèce.

- Répartition géographique: Costa Rica.

- Discussion: *Hymenochaete lenta* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Hymenochaete*.

- est une belle espèce à aspect de *H. luteo-badia* (Fr.) v. Höhn. et Litsch. mais est dépourvu des hyphes paraphysoïdes incrustées de granules si caractéristiques de ce dernier. *H. luteo-badia* possède en outre des spinules lancéolées et beaucoup moins larges et des spores plus larges. Escobar signale que *H. lenta* se situe à proximité du groupe *H. rigidula* - *H. tabacina* - *H. obesa* mais qu'aucun de ceux-ci ne possède un basidiome en forme de grand chapeau sessile. Nous ajouterons que bien d'autres caractères permettent de caractériser *H. lenta* par rapport aux autres espèces à spores allantoïdes de la section *Hymenochaete* et d'affirmer en conséquence qu'il s'agit d'une bonne espèce; les caractéristiques majeures de *H. lenta* portent, outre le port, sur les spores très étroites, les spinules difformes, très larges, à grande lumière et à sommet largement arrondi, et relativement peu nombreuses (contrairement à ce que dit Escobar).

***Hymenochaete microspora* Welden ex Léger**

Hymenochaete microspora Welden *in* Escobar, Contr. Hymenoch.: 133, Fig. 42, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Columbia, A.L. Welden 4365 (NO).

- Diagnose:
"Basidiocarpo resupinato, cereo vel velutino, in sicco griseo-aurantiaco (5B3-5B4) ad centro et "champagne" *(4A3) ad margine; hymenio laevi vel tuberculato; margine gradatim decrescenti. Trama 70-170µm crassa, ex hyphis intertextis 2-2,5µm crassis et massis irregularibus crystallinis; cuticula absenti. Strato setoso super contexto insidenti, 35-100µm crasso, e 1-2 stratis ex setis numerosis dispersis constanti: setis lanceolatis, nudis vel vaginatis, 35-70 x 5-7,5µm, usque ad 35µm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis clavatis, tetrasporis, 9-12 x 3,5-4,5µm; sporis ovatis vel brevi-ellipticis, 2,5-3 x 1,5-2µm. Holotypus* A.L. Welden 4365 *in herbario Universitatis Washingtonii conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: *microsporus* = à petites spores.

- Description personnelle (Fig. 9):
Basidiome résupiné, mince (80-170µm), aride, tuberculé, brun clair-cannelle (7,5 YR 6/4 du Code Munsell = avellaneous Ridgway), à marge (1-2mm) amincie, appliquée à très légèrement décollée, jaunâtre-chamois (10 YR 7/6, c'est-à-dire un peu plus jaune que champagne qui est 10 YR 7/3-7/4). Trame monomitique sans tomentum ni cortex et comprenant:
- un contexte de 35 à 70µm d'épaisseur, formé d'hyphes jaune clair, ramifiées et septées, à paroi mince, lâchement enchevêtrées en tous sens, x 1,5-3µm et contenant çà et là des masses cristallines.
- une couche sétigère de 30µm d'épaisseur généralement mais pouvant atteindre 100µm localement.
Spinules lancéolées, nues ou parfois engainées d'hyphes grêles, implantées plus densément au niveau des petits tubercules de la surface qu'entre ceux-ci, (38)-40-55 x 5,5-7µm, exsertes jusqu'à 35µm.
Hyménium composé de basidioles et de basides clavées 10-12 x 3-4µm, à 4 stérigmates de 3µm de long.

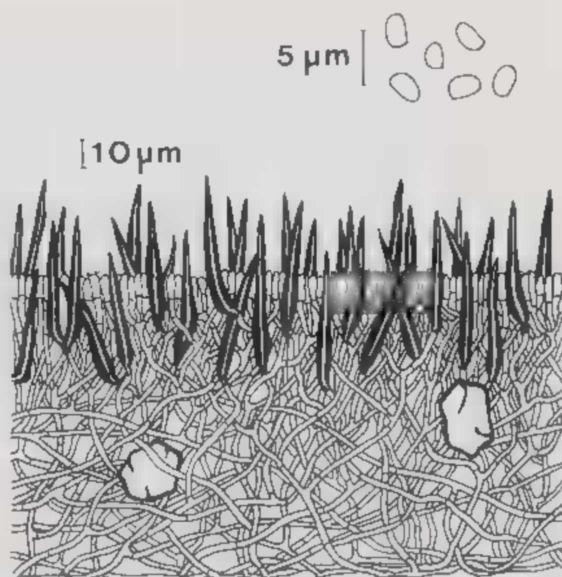


Fig. 9 - *Hymenochaete microspora* Esc. ex Lég. (paratype, Dumont-EC 1079). Coupe transversale dans le basidome.

Fig. 9 - *Hymenochaete microspora* Esc. ex Lég. (paratype, Dumont-EC 1079). Transverse section through the basidiocarp.

Spores ovoïdes à elliptiques courtes, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, (2,5)-3 x 1,8-2µm.

- Spécimen examiné:
"Fungi of Ecuador. N° Dumont-EC 1079. On undet. wood. Ca. 17km from Pinas, toward Machala, on the Arenillas-Loja Road, Prov. El Oro. Elev. 3200 ft. Coll. K.P. Dumont, S.E. Carpenter, P. Buritica, 29 july 1975. Annotated by G.A. Escobar, Apr. 23, 1978: *Hymenochaete microspora Welden, sp. nov.* Paratype." (NY).
C'est, outre l'holotype, la seule récolte de cette espèce.

- Répartition géographique: Colombie, Equateur.

- Discussion: *Hymenochaete microspora* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Fultochaete* Esc. ex Lég.
- est à rapprocher, dans cette section, de *H. anomala* Burt. Cependant ce dernier est de couleur différente, beige (c'est-à-dire d'un gris brunâtre très pâle = vinaceous buff Ridgway) et surtout présente des cystides incrustées ce qui permet une distinction immédiate. Rappelons que *H. anomala* et *H. fulva* Burt sont les deux seules espèces du genre à montrer des cystides incrustées.
Remarque: la seule différence notable entre notre description et celle d'Escobar porte sur la taille des spinules; dans le paratype ici observé, celles-

ci ne dépassent pas 55μm alors que d'après l'inventeur de l'espèce elles peuvent atteindre 70μm.

***Hymenochaete papyracea* Escobar ex Léger**

Hymenochaete papyracea Escobar. Contr. Hymenoch.: 146, Fig. 47, 48, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Columbia, N° Dumont-CO 904 (NY).

- Diagnose:
"Basidiocarpo effuso-reflexo vel sessili-pileato, irregulariter flabelliformi, aliquando imbricato, tenui, in sicco papyraceo, pileo usque ad 1,2cm lato; pagina adaxiali laevigata, zonata, in sicco Griseo-brunnea (6E3) vel "chocolate brown" *(6F4); hymenio valde rimoso, in sicco Aurantio-griseo (5B2) vel Brunneo-griseo(6C3). Trama 150-450µm crassa, ex hyphis agglutinatis 2,5-3µm crassis; cuticula praesenti, ex hyphis et setis fuscatis et dense compactis. Strato setoso super substrato insidenti, 170-480µm crasso, ex setis dispersis constanti sed versus hymenium abundantioribus; setis lanceolatis vel subcylindricis, plerumque cum lumine septate, apice vulgo cum crystallis minutis obtecto, 25-75-(120) x (5)-6-10-(12,5)µm, usque ad 35µm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis subcylindricis, bisporis vel tetrasporis, 9-13 x 3-3,5µm; sporis allantoideis, 4-5 x 1-1,5µm. Holotypus* K.P. Dumont, J.H. Haines, J.M. Idrobo et L.F. Velasquez CO 904 *in herbario Horto Botanico Novi-Yorkii conservatus."* (Escobar, 1978).

- Etymologie: *papyraceus* = papyracé, à consistance de papier.

- Description personnelle (Fig.10):
Basidiome sous forme de petits chapeaux sessiles d'environ 1cm, minces (300-450μm), enroulés sur eux-mêmes sur le sec, à consistance papyracée; face supérieure du chapeau brun sombre chocolat (5 YR 3/2,5 du Code Munsell) presque noire, terne, glabre, avec quelques stries concentriques. Hyménium bai ferrugineux (5 YR 5/4 = Mikado brown Ridgway) profondément crevassé en petites aréoles de forme variée.
Trame monomitique, duplex (sensu Reeves & Welden, 1967), sans tomentum et comprenant:
- un cortex basal rouge sombre de 35-70-(90)μm d'épaisseur, formé d'hyphes à paroi très épaisse, agglutinées-cimentées, à orientation plutôt parallèle à la surface, x 4-5μm. Ce cortex contient des spinules horizontales.
- au-dessus du cortex, une couche claire de 70-110μm formée d'hyphes hyalines ou jaune très pâle, ramifiées, à paroi mince, à orientation parallèle à la surface et peu serrées, x 3-4μm. Cette couche contient d'assez nombreuses spinules et des hyphes sétoides.
- au-dessus de la couche horizontale précédente, une couche plus sombre, 220-300μm, formée d'hyphes verticales ramifiées, serrées, à paroi mince, x 2,5-3μm et de nombreuses spinules verticales.
Spinules lancéolées, peu pointues ou obtuses au sommet, assez souvent septées de 1-4 cloisons et de deux types suivant leur localisation: spinules du cortex et de la couche d'hyphes horizontales lancéolées-élancées, de 50 à 120μm de long et de 6 à 15μm de large, nues, à paroi épaisse et lumière étroite; spinules de la couche d'hyphes verticales plus courtes, lancéolées plus

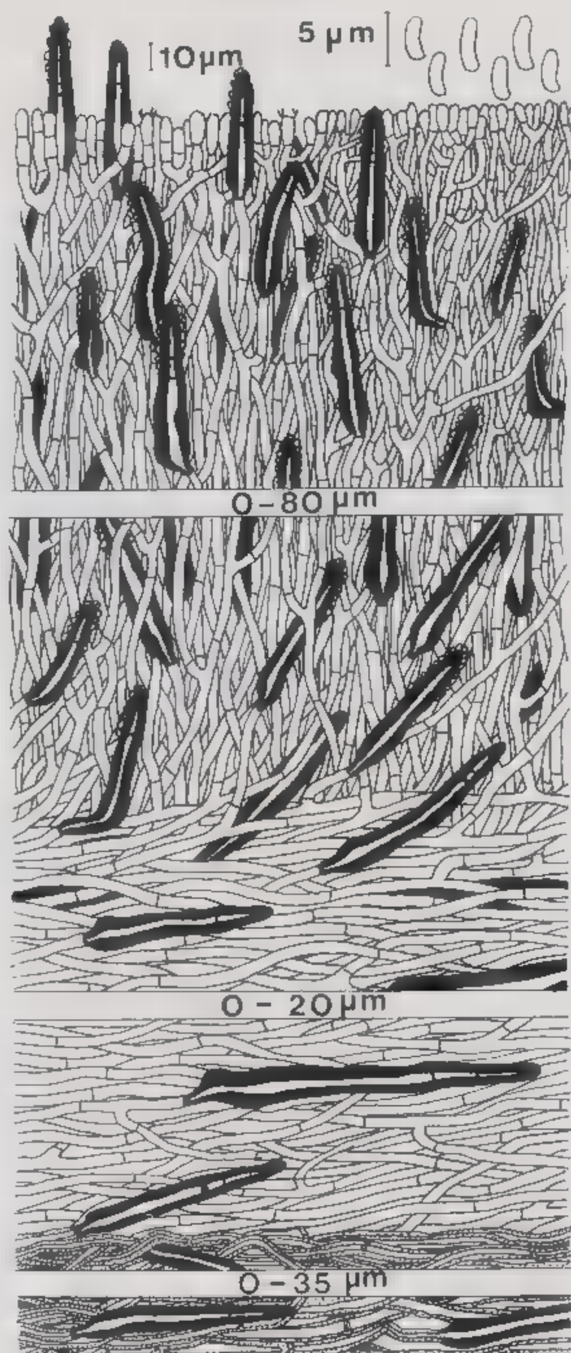


Fig. 10 - *Hymenochaete papyracea* Esc. ex Lég. (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 10 - *Hymenochaete papyracea* Esc. ex Lég. (holotype). Transverse section through the basidiocarp.

trapues, 35-60 x 6-10µm, souvent recouvertes d'un capuchon de cristaux de 5-6µm d'épaisseur sur le 1/3 ou la 1/2 apicale, exsertes jusqu'à 35µm.
Hyménium de 15-20µm d'épaisseur formé de basidioles et de basides 10-12 x 2,5-3µm à 4 stérigmates de 3µm.
Spores allantoïdes étroites, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 4-5 x 1-1,2µm.

- Spécimen examiné:
"Fungi of Columbia. The NY Bot. Gard. N° Dumont-CO 904. On unknown substrate. Vicinity km 44 from Fomeque, road between Calera and Fomeque, Dpto. Cundinamarca. Coll. K.P. Dumont, J.H. Haines, J.M. Idrobo and L.F. Velasquez, 9 july 1974. *H. papyracea nov. sp.*, holotype, *det.* G.A. Escobar, 4/14/1978." (NY).
C'est la seule récolte de cette espèce.

- Répartition géographique: Colombie.

- Discussion: *Hymenochaete papyracea* Esc. ex Lég.
- appartient à la section *Paragymnochaete* Lég. puisque son basidiome à spinules réparties dans toute la hauteur possède un cortex bien développé.
- ne ressemble à aucune autre espèce du genre.
- était placé par Escobar à la fois dans la section *Gymnochaete* (que nous avons amendée, voir plus haut) et dans la section *Hymenochaete* à cause de la présence de spinules dans le cortex, proposition qui ne nous semble pas justifiée.

***Hymenochaete ustulata* Escobar ex Léger**

Hymenochaete ustulata Escobar, Contr. Hymenoch.: 206, Fig. 71, 72, 1978, *nom. inval.*
Holotype: Brazil, B.V. Skvortzov 565 (WTU).

- Diagnose:
"*Basidiocarpo resupinato, cereo, in sicco Brunneo-cinereo (6D2) vel Aurantio-brunneo (7E7); hymenio laevi vel tuberculato; margine gradatim decrescenti. Trama 35-100µm crassa, ex hyphis intertextis 1.5-2.5µm crassis et massis irregularibus crystallinis; cuticula praesenti, ex hyphis fuscatis et dense compactis. Strato setoso super substrato insidenti, 60-140µm crasso, ex setis numerosis dispersis constanti; setis lanceolatis vel subulatis, nudis, 55-85 x 6.5-9µm, usque ad 45µm eminentibus. Hymenio ex basidiis et basidiolis constanti; basidiis clavatis, bisporis vel tetrasporis, 10-12 x 3-5µm; sporis brevi ellipticis 4-5 x 2-3µm. Holotypus* B.V. Skvortzov 565 *in herbario Universitatis Washingtonii conservatus.*" (Escobar, 1978).

- Etymologie: *ustulatus* (de *ustulare*) = brûlé.

- Description personnelle (Fig. 11):
Basidiome résupiné, mince (50-150µm), à surface sublisse à tuberculée, brun terne (7,5 YR 5/2 à 5/4 = vers *brunneus* Fr.), à marge amincie concolore.
Trame monomitique, sans contexte ni tomentum et comprenant:
- un cortex très mince (7-20µm) d'hyphes brun rouge sombre, à lumière très réduite, x 2,5-3µm.

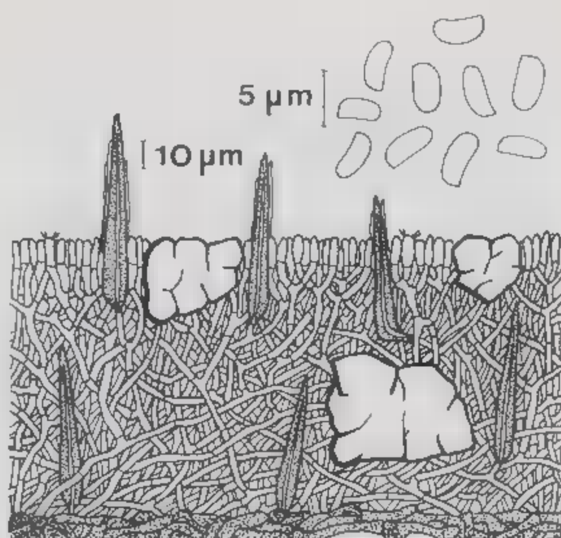


Fig. 11 - *Hymenochaete ustulata* Esc. ex Lég. (holotype). Coupe transversale dans le basidiome.

Fig. 11 - *Hymenochaete ustulata* Esc. ex Lég. (holotype). Transverse section through the basidocarp.

- une couche sétigère de 40-140µm d'épaisseur, formée d'hyphes densément enchevêtrées en tous sens, brun jaune à brun rouge, septées et ramifiées, à paroi mince, x 2,5-3µm et de nombreuses spinules. Çà et là, présence de masses cristallines pouvant être localement abondantes, parfois de taille importante (50-55 x 30-60µm), généralement plus nombreuses en haut de la trame et interrompant même assez souvent l'hyménium.

Spinules lancéolées aiguës, régulières, la plupart de celles qui émergent engainées d'hyphes (x 1,5µm), (45)-50-70-(85) x 6-9µm, exsertes jusqu'à 45µm.

Hyménium formé de basidioles et de basides clavées, 10-12 x 3-4µm à 4 stérigmates de 3µm.

Spores elliptiques à suballantoïdes, hyalines, à paroi mince, non amyloïde, 4-5 x 2-2,5µm.

- Spécimen examiné:

"Fungi of Brazil. *Hymenochaete ustulata* Escobar, *sp. nov.* Loc. Parque do Estado, Inst. de Botanica, Estado de Sao Paulo. Coll. B.V. Skvortzov 565 (duplicate of 379), 1970. Holotype." (WTU).

C'est la seule récolte de cette espèce.

- Répartition géographique: Brésil.

- Discussion: *Hymenochaete ustulata* Esc. ex Lég.

- est à placer dans la section *Paragymnochaete* Lég.

- est à rapprocher (par la taille des spinules et des spores, les cristaux dans la trame...) de *H. dissimilis* G.H. Cunn. qui se distingue cependant par sa surface abondamment fendillée, sa marge abrupte, l'épaisseur du basidiome (atteignant 750μm), la trame d'hyphes agglutinées en pseudoparenchyme et l'absence de cortex.

En ce qui concerne la dixième et dernière espèce décrite comme nouvelle par Escobar, *Hymenochaete weldenii* (Escobar, 1978: 213), nous avons pu examiner toutes les récoltes citées:
"Fungi of Brazil. *Hymenochaete weldenii* Escobar, *sp. nov.* Loc. Parque do Estado, Instituto de Botanica, Estado de Sao Paulo. Coll. B.V. Skvortzov 563 (duplicate 23), 1970. Holotype." (WTU).
"Fungi Mexicani ex herb. Univ. Tulane 08824. *H. weldenii* Escobar, *sp. nov.* (paratype). Very disturbed tropical forest filled with *Acacia* on highway between Tuxtepec and Palmares, ca. 5km from Bethania toward Tuxtepec, Oaxaca. 26 jul. 1977. *Leg.* A.L. Welden 4191. *Det.* G.A. Escobar." (NO).
"Fungi Mexicani ex herb. Univ. Tulane 8825. Idem, *leg.* A.L. Welden 4194." (NO).
"Fungi of Jamaica 08864. *Hymenochaete weldenii* Escobar, *sp. nov.* (paratype). Tributary of Rio Grande on road to Milbank, Portland Parish, 2 jun. 1960. Coll. A.L. Welden 1272. *Det.* Escobar, mar. 10, 1978." (NO).

De notre étude nous tirons les conclusions suivantes:

- le paratype jamaïcain 08864 de *H. weldenii* (A.L. Welden 1272) est en réalité un spécimen de ***H. separabilis*** Lég. (Léger, 1981).

- l'holotype Skvortzov 563 du Brésil ainsi que les deux paratypes 08824 (A.L. Welden 4191) et 8825 (A.L. Welden 4194) de *H. weldenii* sont des spécimens de ***H. anomala*** Burt dont ils présentent toutes les caractéristiques:

- même couleur du basidiome résupiné, granuleux, finement fendillé.

- même type de structure correspondant à la section *Fultochaete* (bien que les exemplaires jeunes de *H. anomala* puissent, selon Escobar, être dépourvus de contexte).

- même caractéristiques des spinules (taille, forme lancéolée et très souvent ondulée-sinuée, faible émergence au-dessus de l'hyménium).

- présence de masses amorphes de matière brun rouge sur et entre les hyphes du contexte et aussi présence de cystides incrustées (15-20 x 6-8-(15)μm) au niveau de l'hyménium; la présence de cystides n'avait pas été notée par Escobar.

- spores elliptiques du même ordre de grandeur (3,5-4,5 x 1,5-2μm).

A noter que l'espèce la plus proche d'*H. anomala* Burt est *H. raunkiaeri* Bres. que nous plaçons dans la section *Fultochaete* et qui possède également des masses amorphes brunes dans un contexte lâche mais a des spinules plus grandes, (40-55-(80) x 5-7μm), jamais sinuées et ne montre aucune cystide.

Nous adressons nos remerciements à messieurs les Conservateurs des herbiers NO, NY et WTU pour le prêt des spécimens ainsi qu'à Monsieur le Professeur J. Boidin pour la lecture critique de notre manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

BURT E.A., 1918 - The *Thelephoraceae* of North America. X. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 5: 301-372.

CUNNINGHAM G.H., 1957 - *Thelephoraceae* of New Zealand. XIV. The genus *Hymenochaete*. *Trans. Roy. Soc. New Zealand* 85: 1-51.

ESCOBAR G.A., 1978 - Contributions towards a monograph of the neotropical species of *Hymenochaete*. Ph. D. dissertation, Univ. Washington. 277p.

JAHN H., 1971 - Stereoide Pilze in Europa (*Stereaceae* Pil. *emend.* Parm. u.a., *Hymenochaete*). *Westfäl. Pilzbriefe* 8: 69-176.

JOB D.J., 1985 - Basidiomycetes xilofilos de la region Mesopotamica. VI. Especies del género *Hymenochaete* Lév. *Revista Invest. Agropecu., Ser. 5, Patol. Veg.* 9 (20): 143-165.

LÉGER J.C., 1981 - Un curieux groupe d' *Hymenochaete* à spinules denticulées (Basidiomycètes Aphyllophorales). *Bull. Soc. Mycol. France* 97: 5-14.

LÉGER J.C. et LANQUETIN P., 1987 - Basidiomycètes Aphyllophorales de l'île de la Réunion. VII. Le genre *Hymenochaete* Lév. *Bull. Soc. Mycol. France* 103: 19-53.

LÉVEILLÉ J.H., 1846 - Description des champignons de l'herbier du Muséum de Paris. *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 3° sér., 5: 111-167.

MUNSELL soil color charts, 1954 - Baltimore, U.S.A., Munsell Color Company.

REEVES F. Jr. and WELDEN A.L., 1967 - West Indian species of *Hymenochaete*. *Mycologia* 59: 1034-1049.

RIDGWAY R., 1912 - *Color standards and color nomenclature*. Washington, U.S.A. Ridgway Ed.

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE ÉCOPHYSIOLOGIQUE DE L'ANTHRACNOSE DE LA LUZERNE AU MAROC ORIENTAL

Bun Meng TROEUNG et Huguette GOSSET

Univ. Mohamed Ier, Faculté des Sciences,
Oujda, Maroc.

RÉSUMÉ - L'anthracnose de la luzerne sévit sporadiquement dans le Maroc oriental, malgré l'aridité du climat. Des évaluations au champ indiquent que les attaques peuvent être importantes au début du printemps et en automne, quand les conditions climatiques deviennent favorables aux agents pathogènes, *Colletotrichum destructivum* et *C. trifolii*. L'étude *in vitro* d'une souche de chacune des espèces isolées de la région précise l'influence de la température sur le développement de ces parasites fongiques. A 35°C, la croissance est très lente pour le premier et nulle pour le second, l'espèce la plus pathogène, d'où l'absence de dégâts en été. En revanche, la température optimale de croissance se situe pour les 2 espèces entre 25 et 30°C, températures qui sont celles du printemps et de l'automne dans la région; selon les années, les rares précipitations intervenant à l'une ou l'autre de ces saisons, on assiste alors à une explosion de la maladie.

ABSTRACT - Anthracnose is a very serious, but sporadical lucerne disease in Eastern Morocco, despite the arid climate. Estimates in field indicate that damage can be considerable in spring and in autumn, when climatic parameters become favorable for the pathogenic agents, *Colletotrichum trifolii* and *C. destructivum*. A study *in vitro* of one strain of each species isolated from the region defines the influence of temperature on the development of the two fungal parasites. At 35°C, *C. destructivum* shows very slow growth and *C. trifolii*, the more pathogenic species, no growth - consequently there is no summer damage. In contrast, the optimal growth temperature for the two isolates is between 25° et 30°C, spring and autumn temperatures in the country. Thus, when rain falls during one of these seasons, anthracnose epidemies will occur.

MOTS CLÉS : Anthracnose, *Colletotrichum*, écophysiologie, luzerne.

INTRODUCTION

La baisse de la production mondiale en luzerne attribuable à *Colletotrichum trifolii* a été longtemps sous-estimée. Barnes et al. (1969) ont été les premiers à attirer l'attention sur l'importance des dégâts dus à l'anthracnose. Par la suite, les travaux de sélection menés en Australie ont permis d'obtenir des descendants à bon niveau de résistance vis-à-vis de cette

maladie (Irwin et al., 1980). De même aux U.S.A. où, grâce à l'utilisation de variétés résistantes, une augmentation notable du rendement a été observée, prouvant ainsi a contrario les pertes en fourrage imputables à *Colletotrichum* spp. (Elgin et al., 1981).

Quelles que soient les régions du globe, les attaques sévères sont toujours signalées à des périodes à la fois chaudes et humides. Nous avons pourtant observé l'anthracnose au Maroc dans la région d'Oujda, proche de la frontière algérienne, au climat aride malgré sa proximité de la côte méditerranéenne. En effet, les paramètres climatiques propres à certaines années y favorisent les agents pathogènes de la fin de l'automne au début du printemps. Nous avons tenté d'évaluer le développement au cours du temps de la maladie, due principalement à *C. trifolii*, l'autre espèce que nous isolons fréquemment, *C. destructivum*, s'étant avérée peu pathogène (Troeung & Gosset, 1987). Parallèlement aux observations faites au champ, et en vue de préciser l'influence de la température sur la croissance des deux espèces de *Colletotrichum*, une étude *in vitro* a été réalisée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1- Evaluations au champ de la sévérité des symptômes

De 1986 à 1989, les observations se sont échelonnées de Novembre à Avril, chez un agriculteur de Sidi-Yahya, localité située à 10km à l'Est d'Oujda. C'est délibérément qu'une exploitation de type traditionnel a été choisie, comme représentative de l'ensemble des luzernières de la région. Les champs sont divisés en petites parcelles d'environ $15m^2$. Ils sont récoltés au rythme de 20 jours en été contre 45 jours durant la période froide de l'année.

Chaque évaluation porte sur 800 à 1000 repousses d'une vingtaine de jours. Les tiges sont sectionnées au niveau du sol, sur une bande de 10cm de large, le long d'une diagonale. A chaque tige est attribuée une note, suivant l'échelle suivante: 1: pas de symptôme; 2: quelques points nécrotiques, inférieurs à 2mm, sur la tige; 3: taches nécrotiques plus grandes sur la tige, mais dépourvues d'acervules; 4: plante encore verte, mais taches nécrotiques couvertes d'acervules; 5: plante morte.

2- Etude au laboratoire de la croissance des *Colletotrichum* spp.

Deux isolats sont retenus, un de *C. destructivum* (C.01) et un de *C. trifolii* (C.09). Ils sont ensemencés sur deux milieux gélosés à 2%:

- M: extrait de malt (20g/l)

- PSA: bouillon de pommes de terre (200g/l) additionné de saccharose (20g/l).

Des implants de 4mm de diamètre sont prélevés à la périphérie d'une préculture âgée d'une semaine, réalisée sur les 2 milieux pour chacune des espèces. Ils sont placés au centre de boîtes de Pétri contenant le milieu correspondant à la préculture, à raison de 10 boîtes pour chaque milieu et cha-

que température d'incubation (20, 23, 25, 27, 30 et 35°C). Une humidité relative proche de 100% est maintenue dans l'étuve.

Deux mesures de croissance diamétrale sont effectuées toutes les 24h sur chacune des 10 boîtes, d'où 20 répétitions.

RÉSULTATS

1 - Evaluations au champ de l'impact de la maladie sur la luzerne

Les figures 1, 2 et 3 sont établies selon les relevés décadaires de la station météorologique d'Oujda: précipitations, températures maximales et minimales, températures minimales au sol. Y sont également indiqués les dates de récolte et le pourcentage de tiges sévèrement attaquées (du stade 3 au stade 5).

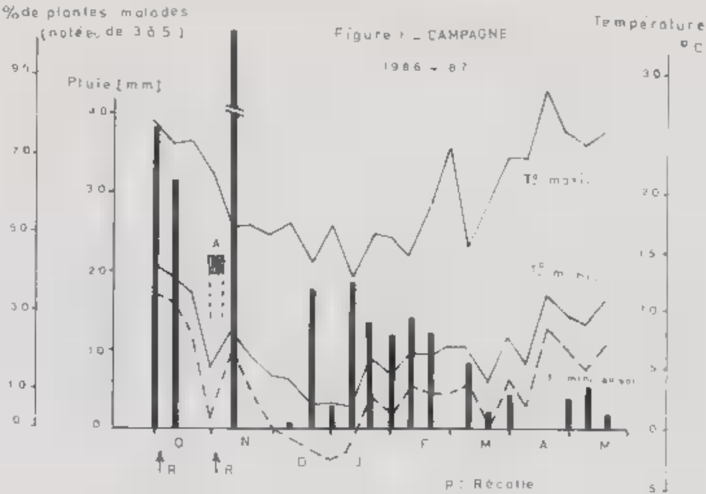
L'observation A de 1986 (Fig. 1) est à l'origine de nos travaux. Cette manifestation soudaine de l'anthracnose (43% de tiges très atteintes) se situe une vingtaine de jours après des pluies orageuses permettant la dissolution des gelées sporifères et la contamination de nombreuses plantes par éclaboussures. Les températures diurnes ont favorisé la germination des spores, tandis que les températures nocturnes ne constituaient pas un facteur limitant.

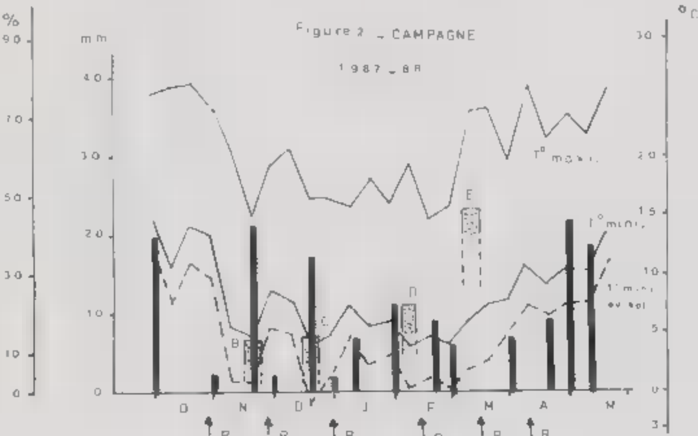
Au cours de la campagne 1987-1988 (Fig. 2), les pluies sont assez bien réparties et l'humidité suffisante. Les observations B, C et D donnent des pourcentages respectifs de plantes malades de 13, 14 et 22%; le parasite demeure donc présent, mais relativement discret. En effet, les températures ne sont pas propices à son développement: les maxima restent inférieurs à 20° et les minima au sol sont compris entre 0 et 5°C. C'est au mois de mars qu'a lieu une recrudescence de l'anthracnose (observation E: 46%), consécutive à une élévation de la température diurne.

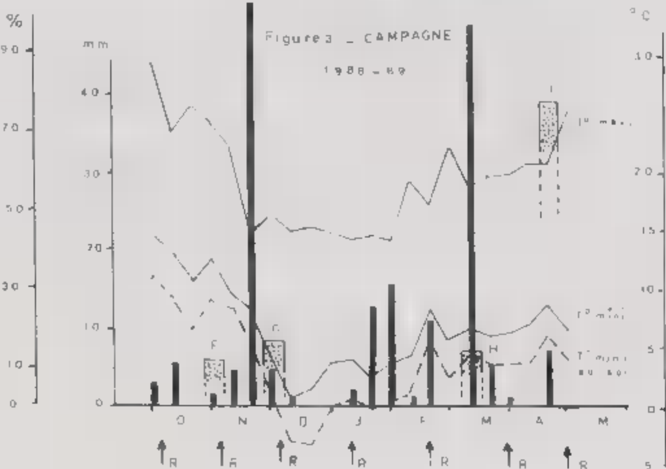
De même, novembre 1988 (observation F, de la Fig. 3) connaît des températures favorables, mais c'est la faible pluviométrie qui ne permet pas une extension de la maladie comparable à celle de novembre 1986 (11% contre 43%). En décembre, lors de l'observation G (16% de tiges fortement attaquées), c'est la température maximale inférieure à 20°C qui ne donne pas au pathogène le moyen de s'exprimer.

Après un hiver assez rude (2 mois de gel), l'inoculum initial s'est trouvé réduit et, en mars 1989, les chutes de pluie et l'élévation des températures n'ont pas autorisé une reprise rapide du parasite (observation H: 13%). Il faut attendre avril pour assister à une "explosion" de la maladie (observation I: 77%).

Pour établir une relation plus précise entre l'évolution de la maladie au champ et les facteurs climatiques, une étude de l'influence de la température sur la croissance *in vitro* du parasite s'avérait nécessaire.

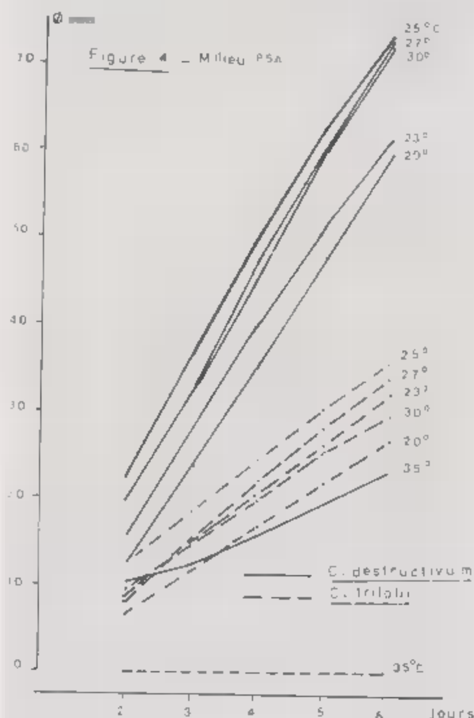

%de plantes malades (notées de 3 à 5)
Pluie (mm)
Figure 1 _ CAMPAGNE
1986 _ 87
Température °C
T° maxi.
T° mini.
T° mini. au sol
O
N
D
J
F
M
A
M
R
R : Récolte


%
mm
Figure 2 _ CAMPAGNE
1987 _ 88
°C
T° maxi.
T° mini.
T° mini. au sol
B
C
D
E
O
N
D
J
F
M
A
M
R


%
mm
Figure 3 _ CAMPAGNE
1988 _ 89
°C
T° maxi.
T° mini.
T° mini. au sol
F
G
H
I
O
N
D
J
F
M
A
M
R

2- Etude *in vitro*

Les figures 4 et 5 donnent, pour chaque température, le diamètre moyen des cultures en fonction du temps.



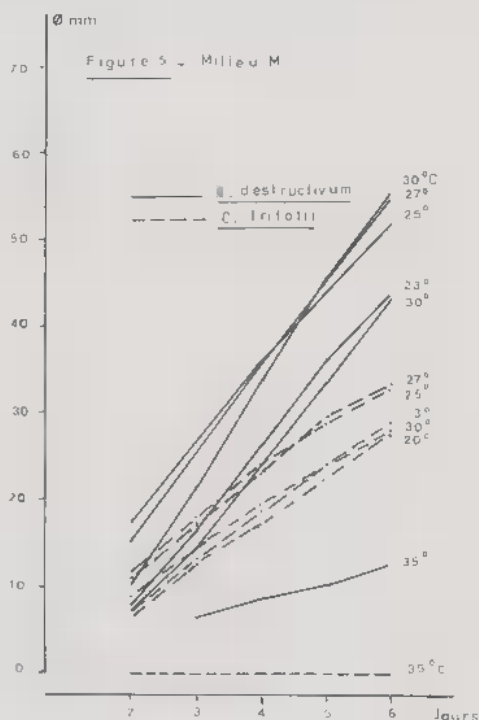


Figure 4 et 5 - Croissance diamétrale journalière cumulée (moyenne de 20 mesures) de *C. destructivum* et *C. trifolii*. Fig. 4, sur PSA. Fig. 5, sur extrait de malt gélosé.

Fig. 4 and 5 - Diametrical daily growth (average of 20 repetitions) of *C. destructivum* and *C. trifolii*. Fig. 4, on potato saccharose agar, Fig. 5, on malt extract medium.

Figures 1, 2 et 3 - Pourcentages de plantes atteintes d'anthracnose (avec taches nécrotiques de plus de 2mm) observées au champ d'octobre 1986 à mai 1989, en relation avec les données météorologiques décadaires: précipitations (en mm), températures maximales et minimales, températures minimales au sol (en °C).

Figure 1, 2 and 3 - Percentages of anthracnose attacks (plants with necrotic spots measuring more than 2mm) observed in field from october 1986 to may 1989, in relation with meteorological data: rain (mm), maximal and minimal temperatures, minimal temperatures on ground level (°C).

Sur PSA (Fig. 4) comme sur M (Fig. 5), les 2 isolats se distinguent nettement par leur vitesse de développement, *C. destructivum* présentant une croissance diamétrale beaucoup plus rapide que *C. trifolii*. A 35°C, la croissance de *C. destructivum* devient très faible (3,2mm ± 1,0 / jour sur PSA contre 1,8mm ± 0,6 sur M), et elle est totalement stoppée pour *C. trifolii*.

Pour les isolats des 2 espèces, la température optimale de croissance se situe entre 25° et 30°C.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Au Maroc Oriental, il est remarquable qu'aucun symptôme ne se manifeste pendant l'été, contrairement à de nombreuses autres observations. C'est ainsi qu'aux U.S.A. Frosheiser et al. (1981) considèrent cette maladie comme la principale cause de "summer decline" dans le Middle Atlantic et les Etats du Sud-Est, tandis qu'Allen et al. (1985) la nomment comme la composante la plus importante du "summer killing" dans l'Etat de Virginie. De même, Watkins et al. (1981) remarquent que les chaleurs humides de la fin de l'été la favorisent au Nebraska. En France, la moitié Nord est le plus souvent épargnée alors que, dans la moitié Sud, plus chaude, l'anthracnose peut entraîner des dégâts de juin à septembre (Raynal & Guy, 1977; Raynal, 1982), suite à des pluies orageuses ou à l'irrigation.

L'étude *in vitro* indique que la croissance de l'espèce pathogène *C. trifolii* est nulle à 35°C. En outre, Welty & Rawlings (1980) ont prouvé que la germination des spores est inhibée dès que la température excède 27°. Pour notre part, nous avons remarqué que des essais en chambre de culture échouaient quand la température s'élevait à 30°C dans les heures suivant la contamination (Gosset et al., 1989). Dans notre région, plusieurs facteurs peuvent alors expliquer l'absence de symptômes durant l'été: des précipitations quasiment nulles (moyenne sur 10 ans de 2 à 3mm en juillet et août), des températures très élevées (moyenne sur 10 ans des températures maximales absolues de 44,5 à 44,9°C), ainsi que des récoltes si rapprochées (tous les 20 jours) que le parasite n'a pas le temps de faire des dégâts sur les repousses.

En revanche, toujours dans le Maroc Oriental, les symptômes les plus sévères s'observent, selon les années, en automne (novembre 1986) ou au printemps (mars 1988 et avril 1989), périodes où températures et hygrométrie redeviennent favorables à l'anthracnose. Ces saisons sont d'ailleurs reconnues en Australie comme favorables dans les Etats du Sud-Est, proches de l'Océan, et dans les régions méridionales irriguées par aspersion (Stovold & Francis, 1988).

Dans tous les cas, ce sont les effets conjugués de précipitations et de températures favorables qui entraînent une progression très rapide de l'anthracnose. Pour pallier une telle situation épidémique, nous avons commencé à sélectionner des cultivars de type méditerranéen à bon niveau de résistance (Troeung & Gosset, 1989) et adaptés aux conditions pédoclimatiques locales.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements à Monsieur JAMAL Mohamed, chef du service de Météorologie d'Oujda, pour les informations précises qu'il nous a aimablement communiquées, Monsieur RAYNAL Guy pour ses conseils scientifiques et Hajj TAJ Mimoun qui, complaisamment, nous a permis de travailler sur ses propriétés depuis plusieurs années.

BIBLIOGRAPHIE

ALLEN S.J., BARNES G.L. and CADDEL J.L., 1985 - Symptomatology and Ecology of Alfalfa Anthracnose in Oklahoma. *Pl. Dis.* 69: 248-251.

BARNES D.K., OSTAZESKI S.A., SCHILLINGER J.A. and HANSON C.H., 1969 - Effect of Anthracnose *(Colletotrichum trifolii)* infection on yield, stand and vigor of alfalfa. *Crop Sci. (Madison)* 9: 344-346.

ELGIN J.H. et al. (19 co-auteurs), 1981 - Anthracnose resistance increases alfalfa yields. *Crop Sci. (Madison)* 21: 457-460.

FROSHEISER F.I., MORRISON R.H. and WELTY R.E., 1981 - Anthracnose of Alfalfa Observed in Minnesota. *Pl. Dis.* 65: 844-845.

GOSSET H., TROEUNG B.M., RAYNAL G. et HUET P., 1989 - Résistance de la luzerne *(Medicago sativa)* à des isolats de *Colletotrichum trifolii* (Bain et Essary) du Bassin méditerranéen, notamment du Maroc. *Agronomie* 9: 495-501.

IRWIN J.A.G., LLOYD D.L., BRAY R.A. and LANGDON P.W., 1980 - Selection for resistance to *Colletotrichum trifolii* in the lucerne cultivars Hunter River and Siro- Peruvian. *Austral. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 20: 447-451.

RAYNAL G. et GUY P., 1977 - Répartition et importance des maladies de la luzerne en France et en Europe. *Fourrages* 71: 5-14.

RAYNAL G. 1982 - Répartition géographique et importance relative des maladies de la luzerne en France: résultats d'une enquête nationale et conseils pour la lutte. *Le Sélectionneur Français* 30: 49-56.

STOVOLD G.E. and FRANCIS A., 1988 - Incidence of *Colletotrichum trifolii* on lucerne in New South Wales, its host range and reaction of lucerne cultivars to inoculation. *Austr. J. Exp. Agric.* 28: 203-210.

TROEUNG B.M. et GOSSET H., 1987 - Première observation de l'anthracnose de la luzerne dans le Maroc oriental. *Agronomie* 7: 361-363.

TROEUNG B.M. et GOSSET H., 1989 - Premiers résultats obtenus au Maroc après un cycle de sélection de *Medicago sativa* pour la résistance à l'anthracnose. *Fourrages* 117: 89-94.

WATKINS J.E., KEHR W.R. and PARTRIDGE J.E., 1981 - Anthracnose - A serious threat to alfalfa. *Farm, Ranch and Home Quarterly* (Univ. Nebraska), non paginé.

WELTY R.E. and RAWLINGS J.O., 1980 - Effects of temperature and light on development of anthracnose on alfalfa. *Pl. Dis.* 64: 476-478.

Source : MNHN, Paris

SOME PRELIMINARY OBSERVATIONS ON THE COMPETITIVE COLONIZATION OF FILTER-PAPER BY CELLULOSE-DECOMPOSING FUNGI

A.F. MOUSTAFA

Department of Botany, Faculty of Science,
Suez Canal University, Ismailia, Egypt.

ABSTRACT - The main objective of the present work has been to study the impact of growth-rate and cellulolytic ability on the competition between cellulose-decomposing fungi during colonization of cellulosic materials. For this reason, species of different growth-rates and of different cellulolytic abilities have been grown opposite each other in pairs and triads on filter paper. According to their competitive growth, cellulose-decomposing fungi were classified into 3 groups namely, **strong, moderate,** and **weak** competitors. It is suggested that members of the first 2 groups are those which might actively participate in the break down of cellulosic materials in the soil. The results also revealed that fungi of similar cellulolytic abilities or growth rates do not necessarily have equal competitive potentialities.

RÉSUMÉ - L'objectif principal de ce travail a été d'étudier l'influence de la vitesse de croissance et de l'activité cellulolytique dans la compétition des champignons décomposant les substrats cellulosiques. Des espèces à taux de croissance et activité cellulolytique différents ont été confrontées par deux ou trois, sur du papier filtre. Selon leur efficacité dans la colonisation, les champignons ont été classés en **forts, modérés** et **faibles** compétiteurs. On suggère que les membres des deux premiers groupes sont ceux qui participent activement à la décomposition des matériaux cellulosiques dans le sol. Les résultats révèlent aussi que les champignons d'activité cellulolytique ou de taux de croissance semblables n'ont pas forcément les mêmes potentialités dans la compétition.

MOTS CLÉS : cellulose-decomposing fungi, competition.

INTRODUCTION

In a previous study (Moustafa & Sharkas, 1972) species potentially able to colonize filter paper cellulose were isolated, from the tidal mud-flats of Kuwait, and their cellulolytic activities were tested. It was noticed that there is no coincidence between the frequency of occurrence of a particular species, on the isolation plates, and its cellulolytic activity in pure culture i.e. high frequency fungi on the filter paper are not necessarily very active cellulose decomposers while less frequent species might be.

For cellulose decomposing fungi, it is most probable that their competitive saprophytic ability rather than their cellulolytic activity determine their contribution to the process of cellulose decomposition in the soil. Also, the success of any fungus in competitive colonization is known to depend on 3 factors: its competitive ability, its inoculum potential, and environmental conditions, both biotic and abiotic (Griffin, 1972). The attributes contributing to the competitive saprophytic ability of a fungus (Garret, 1956) are: its growth rate, enzyme production, and production or tolerance of inhibitors produced by its competitors.

The present investigation was initiated therefore to study the ability of cellulose-decomposing species to colonize filter paper cellulose under competitive conditions in order to:

- ascertain the importance of both cellulolytic activity and growth-rate in the process of cellulose decomposition.

- seek an answer to a fundamental question: do fungi of equal cellulolytic activities and/or growth-rates also possess equal competitive saprophytic abilities?

- assess the reliability of using cellulose-decomposing ability, in pure culture, as a parameter to express fungal activity in the soil.

MATERIALS AND METHODS

Forty-four species, potentiality able to utilize cellulose, were grown (in triplicates) at 27°C on Whatman N° 1 filter paper to differentiate between their cellulolytic abilities and growth-rates. Czapek agar medium (without sugar) supplemented with 0.5% yeast extract was used. Linear-growth rate (Trinci, 1971; Garrett, 1980) as a growth criterion has been adopted. The daily growth rate of all species, inoculated singly, was followed over a period of 10 days thereafter final colonies diameters were measured and compared.

Delineation of fast and slow-growing species:

According to the daily rate of growth, fungi showing growth rate of 1cm or more per day were considered **"fast growers"**. Others showing growth of less than 1cm per day are regarded as **"slow growers"**.

Delineation of high and low cellulolytic ability species:

Dry weight loss (Garrett, 1983) was adopted. Fungi were grown singly on damp filter paper (soaked in mineral solution) for a period of 3 weeks at 27°C. To keep humidity inside plates as constant as possible, a few drops of mineral solution were added every 2 or 3 days. Fungi which caused a loss of 10% or more in the dry weight of filter paper were considered **"high cellulolytic species"**, while those showing a loss in dry weight less than 10% were regarded as **"low cellulolytic species"**.

Interaction between fungi in mixed cultures:

Species of different cellulolytic abilities and others of different growth-rates were inoculated opposite each other (1cm apart) in pairs and triads in order to study the eventual interaction between soil fungi during competitive colonization of cellulosic materials. For every species, 30 tests have been carried out, 15 pairs and 15 triads. The species used in these tests have been selected to fulfil the following cases of interactions:

a) Interaction between fungi of similar and different cellulolytic abilities i.e.: high x high, high x low, low x low.

b) Interaction between fungi of similar and different growth-rates, i.e.: fast x fast, fast x slow, slow x slow.

RESULTS AND DISCUSSION

The fungi studied in the present investigation are listed in Table 1, where they have been arranged, according to their growth rates, in 2 groups namely, **fast** and **slow** growing. **"Fast-growing group"** comprised 20 species showing varying degrees of cellulolytic ability. Only 7 species are highly cellulolytic. The first two members of this group namely, *Trichoderma koningii* and *Lasiobolidium orbiculoides* are extremely fast i.e. quickly covering the whole plates within 2 or 3 days. *L. orbiculoides* is a well known dung fungus (Malloch & Benny, 1973) recently recorded several times from the desert soils of Kuwait (Moustafa & Sharkas, 1982; Moustafa & Khosrawi, 1983).

"Slow-growing group" contained 24 species, of which only 8 are highly cellulolytic while 16 are low. The last four species of this group namely, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Scopulariopsis brevicaulis* and *Ulocladium consortiale* are very slow growers i.e. their colonies remain restricted in size and never exceed 1 or 2cm after 10 days.

Effect of cellulolytic-ability and growth-rate on the interaction between fungi:

The results of interaction studies between fungi of different growth rates and others of different cellulolytic abilities suggest that the potential for competition is not fully dependant upon these 2 factors. It was evident that high cellulolytic ability or fast growth rate of some fungal species does not imply that these species are strong competitors as might be expected. Species such as *Myrothecium verrucaria*, *Stachybotrys atra*, *Chaetomium globosum*, *Graphium penicillioides*, through active cellulose decomposers, are weak competitors. On the contrary, *A. flavus*, *A. egyptiacus*, *A. nidulans*, *P. cyclopium*, *P. funiculosum* proved to be good competitors though all are weak cellulose decomposers.

Table 1 - Cellulose decomposing fungi arranged according to their growth-rates and cellulolytic abilities*

Tableau 1 - Classement des champignons selon leur vitesse de croissance et leur activité cellulolytique*

Fast-growing species	Cellulolytic ability
Trichoderma koningii Oudem.	18.5
Botryotrichum piluliferum Sacc. & March	16.4
Graphium penicillioides Corda	15.2
Fusarium oxysporum Schl. ex Fr.	13.6
Chaetomium brasiliense Batista & Mont.	12.8
Lasiobolidium orbiculoides Mall. & Benny	11.6
Corynascus sepedonium (Emmons) V. Arx	10.2
Paecilomyces variotii Bain.	4.2
Aspergillus tamarii Kita	4.1
Penicillium funiculosum Thom	3.6
P. cyclopium Westling	3.3
A. quadrilineatus Thom & Raper	3.1
A. flavus Link ex Fr.	2.8
A. fumigatus Fres.	2.4
A. niger Van Tieghem	1.8
Narasinhella hyalinospora (Kuehn et al.) V. Arx	1.5
Rhizopus arrhizus Fischer	0.6
Cunninghamella phaeospora Boed.	0.4
Syncephalastrum verruculosum Misra	0.3
Actinomucor elegans (Eidam.) Benj. & Hessel.	0.3
Slow-growing species	**Cellulolytic ability**
Myrothecium verrucaria Ditmar ex Fr.	16.4
Stachybotrys atra Corda	15.6
Chaetomium cochlioides Palliser	14.8
C. globosum Kunze ex Fr.	13.2
C. olivaceum Cooke & Ellis	11.8
C. virginicum Ames	11.4
C. gracile Udagawa	11.2
C. rectopilium Freg. & Amelung	10.3
Ascotricha bosei D. Hawksw.	5.8
Phoma fimeti Brunaud	4.2
Arachniotus dankaliensis (Cast.) V. Beyma	3.4
Aspergillus ustus (Bain.) Thom & Church	3.2
A. egyptiacus Moub. & Moustafa	3.0
A. nidulans (Eidam) Wint.	2.7
A. terreus Thom	2.2
A. sydowii (Bain. & Sart.) Thom & Church	1.7
Drechslera spicifera (Bain.) V. Arx	1.4
A. ochraceus Wilhelm	1.2
A. unguis (Emile Weil & Gau.) Thom & Raper	0.9
Alternaria chlamydospora Mouchacca	0.6
A. alternata (Fr.) Keissler	0.4
Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries	0.4
Scopulariopsis brevicaulis (Sacc.) Bain.	0.3
Ulocladium consortiale (Thüm.) Simmons	0.2

* For growth-rate and cellulolytic abilities see Materials and Methods.

The interaction between species, when grown opposite each other in pairs or triads, varied markedly from one case to another. The following observations are the most important:

1- On the whole, interactions between pairs of species seemed to be very specific i.e. in many cases, a particular species A may completely overgrow species B, however, it may completely fail with species C. For instance, *Lasiobolodium orbiculoides* dominated over its opponents in all pair tests but was completely overgrown by *Trichoderma koningii*.

2- In triad tests, on the other hand, the interactions are less specific. Complete overgrowth of any fungus over its two associates was never reported. In all cases species A either partly dominate over or co-exist with species B and C, e.g. *Botryotrichum piluliferum* partly dominated over *Graphium penicillioides* and *Corynascus sepedonium* but co-existed fairly well with *Fusarium oxysporum* and *Chaetomium rectopilium*. The presence of a third organism sharing the association most probably reduce the deleterious effect resulting from specific interaction. Such buffering action created by fungi growing in populations is a factor of great ecological significance contributing to the regulation of biological equilibrium in the soil. Therefore, a group of species (more than 3) in mixed culture would certainly be better and more realistic in competitive studies to avoid specific interactions, a phenomenon which does not exist in the soil. However, a technique whereby a population of several organisms can be introduced into the substrate at a time is currently not available.

3- Species belonging to one genus do not necessarily possess similar potentialities. This was prominant in species of *Chaetomium* and *Aspergillus*. Seven species of *Chaetomium* were tested but the most competitive were only *C. brasiliense*, *C. virginicum*, *C. cochlioides*. Also, *Aspergillus* is represented by 12 species but the best competitors were *A. flavus*, *A. egyptiacus*, *A. nidulans*, and *A. quadrilineatus* although all are not highly cellulolytic.

4- *Trichoderma koningii* proved to be the most powerful fungus among all species tested. It completely overgrew its opponents in the majority of pair and triad tests. Its growth however, was partly inhibited in few cases, namely when grown in triad associations with any of the following species: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Fusarium oxysporum* and *Syncephalastrum verruculosum*.

5- The results clearly showed that not all fast-growing and/or high cellulolytic ability species are good competitors, on the contrary many fungi of low cellulolytic ability and/or slow growth-rate are able to show good competition. Such observation many point to a fact that there must be some factors beside cellulolytic activity and growth-rate that enables these fungi to complete successfully and develop their colonies in the presence of strong cellulose decomposers. Most probably such species are able either to secrete and/or tolerate the inhibitory effect of metabolites excreted by their associates. It is likely that both factors may have little influence upon competition between cellulose-decomposers. Each of these factors may be involved rather as ■ privilege than a limiting factor during competition. This agrees well with the findings of Tribe (1966) who concluded that "cellulolytic

activity is secondary to other competitive characters". A further, evidence was given by Garrett (1983) during a study of filter paper decomposition by different cellulolytic species. He noticed that growth rate in some species came in the reverse order to their cellulolytic activity.

6- According to the behaviour of species when grown in pairs and triads, several growth patterns have been recorded according to which cellulose decomposing fungi could be "tentatively" classified into 3 groups as follows (Table 2):

Table 2: Cellulose decomposing fungi classified into groups and arranged in decreasing order of dominance (*) according to their interactions in pairs and triads.

Tableau 2 - Classement des champignons en 3 groupes selon les résultats des confrontations (à 2 ou 3) et arrangement en ordre décroissant de dominance*.

Group "A"		Group "B"	
Species	% dominance	Species	% dominance
Trichoderma koningii	100	*Fusarium oxysporum*	46
Chaetomium brasiliense	86	*Chaetomium rectopilium*	43
Lasiobolidium orbiculoides	73	*Corynascus sepedonium*	43
Botryotrichum piluliferum	63	*Graphium penicillioides*	40
Aspergillus flavus	53	*Chaetomium virginicum*	40
		C. cochlioides	40
		Aspergillus egyptiacus	40
		A. nidulans	36
		A.quadrilineatus	33
		Penicillium cyclopium	30
		P. funiculosum	26

Group "C"			
Species	% dominance	Species	% dominance
Chaetomium globosum	23	*A. niger*	6
C. olivaceum	22	*A. ochraceus*	6
C. gracile	20	*A. sydowii*	5
Arachniotus dankaliensis	16	*A. ustus*	4
Stachybotrys atra	13	*A. tamarii*	4
Myrothecium verrucaria	13	*Narasinhella hyalinospora*	3
Phoma fimeti	10	*Cunninghamella phaeospora*	3
Aspergillus unguis	10	*Actinomucor elegans*	3
Paecilomyces variotii	10	*Ascotricha bosei*	3
Syncephalastrum verruculosum	10	*Cladosporium cladosporioides*	2
Rhizopus arrhizus	7	*Ulocladium consortiale*	2
Scopulariopsis brevicaulis	7	*Alternaria chlamydospora*	2
Aspergillus terreus	7	*A. alternata*	2
A. fumigatus	7	*Drechslera spicifera*	2

* For % dominance see text (Materials & Methods)

Group A, Strong competitors: assigned to this group species which completely predominated over their associates in 50% or more of cases. Only 5 species belong to this group. Except for *A. flavus* all members are highly cellulolytic and fast growers.

Group B, Moderate competitors: consists of species which showed predominance or co-existence (in approximately equal colonies) with others in 25% - 50% of cases. This group comparses 11 species of various characters i.e. fast and slow growth rates, high and low cellulolytic abilities.

Group C, Weak competitors: includes species which showed just existence in the form of small restricted colonies in less than 25% of cases. Most fungi tested (28 out of 44) belong to this group.

With regard to this categorization it has to be expected that members of Groups A and B are those which participate actively in the breakdown of cellulosic materials in the soil much more than members of Group C can do although the latter group constitutes species of well known cellulolytic activity like *Stachybotrys*, *Myrothecium* and some species of *Chaetomium*. These species however failed to exercise their cellulolytic activity under competitive condition. For this reason, the use of cellulose decomposing ability of a species, in pure culture, as a parameter to express it activity in the soil is not reliable.

As cellulose-decomposing fungi differ in their competitive abilities, they possibly follow a sort of autonomic succession during cellulose colonization i.e. some species may anticipate others. The first wave is expected to comprise those species which possess fast growth rate. It is possible that members of this wave have no or little ability to produce or to tolerate metabolites. Therefore, growth rate here is an advantageous factor enabling such species to anticipate others during colonization in order to escape severe competition. The second wave consists of fungi which are able to interfere with others and overgrow them depending mostly upon their ability to produce and/or to tolerate the effect of metabolites. A similar pattern of succession has been reached by Tribe (1960) in his follow-up of succession of fungi during colonization of cellulose film in various Canadian soils, and by Park (1959) during a study of colonization of grass leaves and clover stolens.

There is no doubt that using unnatural substrates like filter paper in this study and others (Garrett, 1956; Park, 1975, 1976 a,b; Forbes & Dickinson, 1977; Deacon & Henry, 1978) or cellulose film (Tribe, 1960, 1966; Griffith & Jones, 1963; Deacon, 1979) is open to criticism nevertheless, it might give a clue to what happens between cellulose decomposing species in the soil. However, what happens *in vitro* cannot signify what occur *in vivo* where pure substrates do not exist and fungi always present in large population and not in pairs or triads. Also, bearing in mind technique limitations and in addition that the soil is a complex environment inhabited by vast numbers of micro-organisms, our study is a preliminary one until such technique is available whereby a mixed population of organisms could be introduced at a time into a controlled soil system to imitate what is actually present in nature.

REFERENCES

DEACON J.W. and HENRY C.M., 1978 - Mycoparasitism by *Pythium oligandrum* and *P. acanthicum*. *Soil Biol. Biochem.* 10: 409-415.

DEACON J.W., 1979 - Cellulose decomposition by *Pythium* and its substrate groups of fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 72: 469-477.

FORBES R.S. and DICKINSON C.H., 1977 - Effect of temperature, pH and nitrogen on cellulolytic activity of *Fusarium avenaceum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 68: 229-235.

GARRETT S.D., 1956 - *Biology of root infecting fungi.* Cambridge, Cambridge Univ. Press.

GARRETT S.D., 1980 - Colonization of unsterilized filter paper by cereal foot-rot fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 74: 259-263.

GARRETT S.D., 1983 - Weight loss of unsterilized filter paper caused by colonies of cereal foot-rot fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 81: 421-423.

GRIFFIN D.M., 1972 - *Ecology of soil fungi.* London, Chapman & Hall.

GRIFFITH E. and JONES D., 1963 - Colonization of cellulose by soil microorganisms. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 285-294.

MALLOCH D. and BENNY G.L., 1973 - California Ascomycetes. Four new species and a new record. *Mycologia* 65: 648-661.

MOUSTAFA A.F. and SHARKAS M.S., 1982 - Fungi associated with cellulose decomposition in the tidal mud-flats of Kuwait. *Mycopathologia* 78: 185-190.

MOUSTAFA A.F. and KHOSRAWI L., 1983 - Ecological study of fungi in the tidal mud-flats of Kuwait. *Mycopathologia* 79: 109-114.

PARK D., 1959 - Some aspects of the biology of *Fusarium oxysporum* Schl. in soil. *Ann. Bot.*, N.S., 23: 35-50.

PARK D., 1975 - A cellulolytic pythiaceous fungus. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 65: 249-257.

PARK D., 1976a - Cellulose decomposition by an aquatic pythiaceous fungus. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 66: 65-70.

PARK D., 1976 b - Nitrogen level and cellulose decomposition by fungi. *Int. Biodeterioration Bull.* 12: 95-99.

TRIBE H.T., 1960 - Aspects of decomposition of cellulose in Canadian soils. I. Observations with the microscope. *Canad. J. Microbiol.* 6: 309-316.

TRIBE H.T., 1966 - Interactions of soil fungi on cellulose film. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49: 457-466.

TRINCI A.P.J., 1971 - Influence of the peripheral growth zone on the radial growth rate of fungal colonies on solid media. *J. Gen. Microbiol.* 67: 325-344.



BIBLIOGRAPHIE

SEMAL J. et al., 1989 - Traité de Pathologie Végétale. Belgique, Les Presses agronomiques de Gembloux, 621p., 26 pl. coul., 33 ph., 130 fig., 44 tab.

Cet important traité, fruit d'un travail collectif, est structuré en 4 ensembles de chapitres, précédés d'une introduction sur les *maladies des plantes: concepts généraux* (J. Semal) qui, après un rappel de terminologie et un bref historique de la phytopathologie, présente la symptômatologie générale (avec 14 pl. coul.), précise les notions de dégâts et de pertes, et analyse l'impact socio-économique de la protection des plantes.

Un premier ensemble de 6 chapitres est consacré à l'étiologie. Il débute par l'étude des *causes non parasitaires des maladies* (R. Impens): facteurs climatiques, radiatifs, édaphiques et trophiques, atmosphériques (pollutions), etc. Vient ensuite la présentation des *virus et viroïdes phytopathogènes* (J. Kummert & J. Semal) qui insiste sur les natures, structures et stratégies de réplication propres aux divers groupes: phytovirus à RNA messager, antimessager ou bicaténaire, virus et RNAs satellites, phytovirus à DNA, mycovirus et viroïdes. Les *procaryotes* sont répartis sur 4 sous-chapitres: bactéries phytopathogènes (J. Viseur), bactéries glaçogènes (J. Semal), "dysphagobactéries", terme nouveau proposé pour désigner les procaryotes à paroi trilamellaire qui colonisent les tissus conducteurs des plantes (J. Semal) et mollicutes phytopathogènes, c'est-à-dire ensemble des "mycoplasma-like organisms" et spiroplasmes (J. Semal & J. Vanderveken). Le problème des *protozoaires phytopathogènes* est brièvement évoqué (J. Semal), suivi de la présentation des *champignons phytopathogènes* (M. Meulemans), puis de celle des *phanérogames phytopathogènes* (J. Vanderveken). Les impacts symptômatologiques des développements de quelques bactéries, champignons et phanérogames phytopathogènes sont illustrés par 11 pl. coul.

Les 3 chapitres suivants sont consacrés aux facteurs de développement des maladies chez les végétaux: les *relations hôte-parasite* (P. Lepoivre & J. Semal) présentées essentiellement dans le cadre des champignons et procaryotes phytopathogènes, le cas des molécules infectieuses ayant été traité dans le chapitre consacré aux virus et viroïdes, les *modalités de transmission des phytovirus* (J. Semal & J. Vanderveken) et, enfin, *l'épidémiologie des maladies parasitaires des végétaux* (P. Lepoivre).

Un ensemble de 8 chapitres développe ensuite les méthodes de lutte contre les maladies des plantes: *diagnostic des maladies parasitaires* (P. Lepoivre & J. Kummert), *règles générales de lutte contre les maladies des plantes* (J. Semal), *réglementation phytosanitaire* (P. Lepoivre), *pratiques culturales et leurs effets sur la maladies des plantes* (P. Lepoivre), *amélioration génétique de la résistance aux agents phytopathogènes* (P. Seilleur), *cultures de tissus et phytopathologie* (P. Lepoivre & J. Semal), *lutte biologique en phytopathologie* (P. Lepoivre & J. Semal) et *aspects phytopathologiques de la chimiothérapie* (P. Lepoivre).

Le dernier volet, intitulé "phytopathologie et agronomie", réunit 4 chapitres: *phytopathologie et bioingénierie* (J. Semal), *phytopathologie et économie* (P. Lepoivre), la *protection des végétaux dans les pays en développement* (J. Fraselle) et les *grands problèmes de la phytopathologie contemporaine* (J. Semal). L'ouvrage se termine par une bibliographie regroupée par thèmes, un glossaire et un index général.

On dispose véritablement, avec cet ouvrage, d'une présentation actualisée et largement illustrée par des exemples concrets de l'ensemble des acquis, tant fondamentaux qu'appliqués, relatifs aux agents phytopathogènes et à la pathologie

végétale. Il a en outre le mérite de mettre en valeur la grande variété des situations, consécutives à la diversité des facteurs de maladies et des contextes agronomiques, et qui entraîne évidemment une multiplicité des stratégies de protection des cultures. Il analyse, enfin, les problèmes qui subsistent et les perspectives même si, pour certaines de ces dernières, il est encore difficile d'estimer l'importance de leurs impacts futurs.

P. Joly

DISSING H., HANSEN L., KNUDSEN H., OLSON L.W. and SØCHTING U., 1989 - Mycological studies dedicated to Morgen Lange. *Opera Botanica* 100: 1-274, ill.

En introduction aux 30 contributions mycologiques de collègues scandinaves et européens, R. Watling nous présente la carrière scientifique (depuis 1944) et le personnage qu'est Morgen Lange. Editeur en chef d'Opera Botanica, il est considéré comme le pilier de la mycologie scandinave, partageant son enthousiasme pour les cryptogames tant avec les professionnels qu'avec les amateurs. Si les études taxonomiques et de répartition dominent l'ensemble des contributions présentées, les aspects génétiques, chimiques ou cytologiques sont aussi abordés. Quelques articles abordent les problèmes écologiques: stratégie de vie ou rôle de certains champignons dans l'évolution de leurs substrats. De plus on y remarque un article concernant les lichens de l'Arctique et un autre résumant l'histoire de la mycologie en Islande. Sacrifiant à l'aimable coutume, Schumacher et Huls ont dédié un *Lambertella* nouveau, de Norvège, à Morten Lange.

D. Lamy

KUHN P.J., TRINCI A.P.J., JUNG M.J., GOOSEY M.W. and COPPING L.G., 1990 - Biochemistry of cell walls and membranes in fungi. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag 327p.

Au chapitre 1, signé par P.J. Kuhn & A.P.J. Trinci: "Cell walls and Membranes in Fungi-An introduction", font suite 18 autres chapitres consacrés à l'étude des parois (ch. 2 à 7) et des membranes (ch. 9 à 18), le chapitre 8 traitant des protéines glycosylées chez *S. cerevisiae* (W. Tanner).

Pour aborder l'étude des parois fongiques J.F. Pederby présente une revue documentée où il expose et discute l'ensemble de nos connaissances sur ces structures. Au lecteur pressé, nous recommandons vivement la lecture de ce ch. 2: il aura, en une vingtaine de pages, une vue précise et synthétique du sujet, sous les principales rubriques suivantes: composition, structure, synthèse des polymères, stabilité, régénération (protoplastes), génétique, rôle (surface de reconnaissance et de protection), cibles d'antibiotiques. Plusieurs de ces thèmes sont détaillés dans les chapitres suivants.

Ainsi les synthèses des polymères sont-elles traitées dans les ch. 3 et 7; E. Cabib et al. (Ch. 3) rapportent leurs surprenants résultats: la chitine synthétase CHS1, reconnue jusqu'ici comme essentielle dans la synthèse de chitine, ne joue en réalité qu'un rôle secondaire par rapport à une nouvelle chitine synthétase, CHS2, nouvellement mise à jour et dont le rôle primordial a été définitivement prouvé par des expériences de génétique. A la différence de la plupart des autres champignons inférieurs et supérieurs, les Oomycètes n'ont pas de chitine. Les expériences de M. Fevre et al. (Ch. 7) montrent bien que la synthèse des glucanes (β 1 → 3 et β 1 → 4) a lieu à l'extrémité apicale des hyphes et non dans les structures membranaires, ce que confirment les expériences de régénération des parois par les protoplastes. Ces synthèses résultent de l'activité de β 1 → 3 et β 1 → 4 glucanes synthases qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles différentes.

La synthèse de la chitine s'avère tout naturellement une cible privilégiée pour les agents antifongiques, tels les polyoxines, utilisés en abondance, au champ, depuis de nombreuses années. G.W. Gooday (Ch. 5) expose les recherches sur le sujet, indi-

que les modalités de résistance de ces antibiotiques et souligne l'intérêt de la découverte des allosamidines, inhibiteurs des chitinases à rôle morphogène.

Comment concilier la rigidité de la paroi avec la nécessaire croissance hyphale? Pour comprendre le mécanisme global, J.G.H. Wessels et al. (Ch. 6) exposent leur "steady-state theory": les β 1 → 3 et β 1 → 4 glucanes déposés à l'extrémité de l'hyphe en croissance subissent un étirement lors de leur migration vers les régions externes de la paroi, ce qui maintient constante son épaisseur lors de l'extension. Avec le temps, les liaisons reliant les polymères individuels augmentent la rigidité; les processus de bourgeonnement et de ramification résultent d'évaginations consécutives à un ramollissement de la paroi.

S. Bartniki-Garcia et al. nous proposent, dans le ch. 4, un modèle fort ingénieux - et convainquant - pour expliquer la croissance hyphale et, d'une façon fort générale, toute morphogenèse fongique (germination sporale, bourgeonnement, divers types de croissance). La clé de ce système repose sur le déplacement linéaire, plus ou moins rapide, d'un "Vesicle Supply Center" (VSC), qui fournirait le matériel nécessaire à la croissance hyphale; le déplacement et le contrôle initial de la morphogenèse fongique reposent sur des éléments du cytosquelette autorisant la migration du VSC.

Bien qu'encore limitée, notre connaissance actuelle des membranes fongiques indique que celles-ci sont bâties à partir des mêmes matériaux (lipides et protides) et fonctionnent selon le même modèle général que chez les autres Eucaryotes. D.M. Losel (Ch. 9) rassemble les informations relatives aux systèmes membranaires (structure, composition et transfert vésiculaire du matériel vers les extrémités hyphales (chitosomes)). Beaucoup trop de données concernant des extraits globaux ne permettent pas de connaître la composition réelle de chaque type membranaire; des travaux plus récents sur des levures et quelques champignons filamenteux, réalisés à partir de préparations membranaires purifiées, apportent des informations beaucoup plus fines et spécifiques. Globalement, glycérophospholipides et stérols constituent l'essentiel de la fraction lipidique, mais leurs teneurs respectives peuvent varier profondément selon l'espèce, la nature de la membrane, l'état de différenciation et les conditions environnementales; les chapitres ultérieurs seront consacrés à leur étude (biosynthèse et inhibition de biosynthèse).

Les levures constituent un matériel de choix pour analyser les mécanismes de biosynthèse et le rôle des glycérophospholipides membranaires. A l'aide de mutants de *Saccharomyces cerevisiae* et *S. pombe*, affectés dans la synthèse de leurs phospholipides, J.E. Hill et al. (ch. 16) étudient les mécanismes génétiques régulant les voies de biosynthèse; de tels mutants permettent de mieux apprécier le rôle de chaque constituant membranaire et la possibilité d'une éventuelle substitution par d'autres phospholipides proches (substitution permise si même charge électrique). Compte-tenu que la biosynthèse des phospholipides fongiques emprunte des voies identiques à celles des autres eucaryotes, l'existence d'inhibiteurs spécifiques aux champignons paraît surprenante. Cependant la validamycine - antibiotique aminoglycosidique - et les organophosphorés de type edibenphos et iprobenfos, agissent tous deux, aux faibles concentrations, comme paramorphogènes, c'est-à-dire augmentent les ramification sans diminuer la vitesse spécifique de croissance. Leur action se manifeste en modifiant la composition phospholipidique des champignons sensibles: chute de la phosphatidylinositol chez *Rhizoctonia cerealis* avec la validamycine, chute de la phosphatidylcholine avec l'edibenphos chez *Fusarium graminearum* (G.D. Robson et al., Ch. 17).

Certaines protéines membranaires font l'objet d'études fouillées: il s'agit tout d'abord des récepteurs membranaires assurant la transduction de signaux externes en évènements biochimiques (intervention de Ca^{++} comme second messager des inositides phosphates, des protéines kinases); le ch. 18 (D. Pitt & A. Kaile) fait le point sur ce sujet; par ailleurs, dans le ch. 19, C.L. Slayman et al. analysent l'ensem-

ble des caractéristiques structurales et fonctionnelles de l'ATPase membranaire de *Neurospora crassa*.

Une des questions les plus intrigantes dans le domaine de la biochimie des membranes concerne le remplacement du cholestérol des cellules animales par des stérols présentant une substitution sur le C_{24} (stérols des végétaux) avec, en plus, pour l'ergostérol des champignons, une double liaison supplémentaire dans le cycle B du squelette. Vanden Bossche (ch. 10) récapitule les expériences conduites, pour la plupart sur des levures, avec des systèmes vésiculaires, des mutants auxotrophes vis-à-vis des stérols, des azotes inhibiteurs de leur synthèse. Les résultats démontrent le rôle essentiel de ce stérol alkylé qu'est l'ergostérol dans la fluidité membranaire. L'inhibition de sa synthèse entraîne de profondes altérations, comme l'arrêt de l'assemblage de l'actine, d'où les dépôts délocalisés de chitine, l'accumulation des vésicules de sécrétion. L'ergostérol est en somme impliqué dans une grande variété de fonctions cellulaires et l'inhibition de sa synthèse se traduit finalement par l'arrêt de croissance, puis la mort de la cellule. La synthèse complexe de ce composé met en jeu plusieurs compartiments cellulaires (reticulum endoplasmique et mitochondries). Finalement l'auteur tente de répondre à la question du choix, par les champignons, de l'ergostérol, au cours de l'évolution. Outre les propriétés déjà mentionnées sur la fluidité membranaire et ses conséquences, ne pourrait-il pas être à l'origine de la synthèse d'une molécule assurant la croissance, appelée SERF pour "Sparking Ergosterol Replacement Factor. Compte-tenu de l'importance des travaux enzymologiques et chimiques consacrés aux stérols fongiques et végétaux, les ch. 11 à 15 traitent des voies de biosynthèse de ces derniers: R.H. Abeles examine les modalités enzymologiques (substrats, inhibiteurs) assurant le passage de l'Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-CoA (HMG-CoA) à l'IsopentènylPyrophosPhate (IPP), les séquences allant de l'IPP au squalène sont revues par C.D. Poulter: la caractérisation bichimique de cette voie reste, pour l'essentiel, à réaliser. Le rôle central du squalène dans la biosynthèse des stérols est bien connu et sa transformation obligée en époxyde de squalène est présentée par N.S. Ryder. Cette enzyme s'avère une cible privilégiée pour tous les agents antifongiques et certains (les allylamines) exercent une stricte activité fongicide. Enfin les aspects enzymologiques et génétiques relatifs au passage du lanostérol à l'ergostérol sont analysés par S.L. Kelly et al. Dépassant le cadre strictement fongique, A. Rahier et al. analysent les processus d'inhibition des stérols de végétaux supérieurs et démontrent l'importance, dans le mécanisme d'action des inhibiteurs, des interactions électrostatiques au niveau des sites enzymatiques.

Ecrit par des spécialistes mondialement renommés, ce livre fournit donc une mise au point sérieuse de notre savoir sur les membranes et parois fongiques. On note une bonne complémentarité entre les chapitres avec un minimum de redondance. Le texte et les illustrations (88 fig. et 46 tab.) sont soignés et ne comportent que très peu de coquilles (signalons celles concernant le squelette des stérols p. 136). Une place importante est faite aux inhibiteurs qui ont permis de réels progrès dans la connaissance des voies métaboliques; les chercheurs, de plus en plus sollicités - et financés - par les groupes industriels, progressent dans la mise au point et la compréhension des mécanismes d'action des fongicides. Dans un tel contexte on peut regretter l'absence d'une discussion sur les possibilités et les limites de leur utilisation *in natura*.

N. Arpin

SINGER R., 1989 - New Taxa and New Combinations of Agaricales (*Diagnose Fungorum Novorum Agaricalium* IV). *Fieldiana Bot.*, N.S., 133p.

Ce fascicule réunit plus de 300 diagnoses latines validant des taxons spécifiques et infraspécifiques étudiés par l'Auteur dans divers travaux déjà parus ou à paraître prochainement. L'introduction apporte d'ailleurs toutes les précisions utiles sur les ouvrages et articles auxquels il faut se référer pour avoir des informations d'ordre taxinomique ou écologique sur les espèces envisagées. A la lumière des mêmes expli-

cations, on comprendra aussi qu'aucune discussion critique détaillée ni aucune illustration n'accompagne le répertoire des descriptions présentées.

Les diagnoses, reprenant évidemment, pour chaque espèce ou variété, les caractéristiques macro- et microscopiques ainsi que la désignation du type, concernent de nombreux Agarics *sens. lat.*, également un Pleurote, des *Rhodocybe*, quelques Bolets, enfin plusieurs Russules et un Lactaire. Les spécimens étudiés proviennent des différents continents mais, dans leur grande majorité toutefois, sont d'origine centre- et sud-américaine. La classification, enfin, suit exactement celle utilisée par l'Auteur dans la 4ème édition (1986) de "The Agaricales in Modern Taxonomy" dont cette liste, avec les trois précédentes consacrées comme elle à une actualisation nomenclaturale, vient constituer un complément documentaire indispensable.

J. Perreau

FARR D.F., BILLS G.F., CHAMURIS G.P. and ROSSMAN A.Y., 1989 - Fungi on Plants and Plant Products in the United States. St. Paul, Minnesota, Amer. Phytopathol. Soc. Press, 1252p.

La Société Phytopathologique Américaine a manifesté, au cours de ces dernières années, une activité franchement marquée dans le domaine de l'édition de livres portant sur divers sujets en rapport avec la Mycologie. Sa dernière contribution est un énorme ouvrage, réalisé par 4 chercheurs du Systematic Botany and Mycology Laboratory (Beltsville, U.S.A.). Il est destiné à remplacer l'ancien index officiel multidisciplinaire des maladies des plantes aux USA, paru en 1950-52. Le document proposé a un contenu informatif d'une amplitude colossale. On y trouve une liste de 13000 noms de champignons admis par la communauté scientifique, impliqués dans près de 80000 liens de toute nature avec des plantes-hôtes, recensés après analyse de plus de 4000 publications concernant uniquement les Etats-Unis.

L'introduction est composée de trois sections: une présentation des objectifs majeurs de l'ouvrage et des particularités de son contenu informatif, des instructions détaillées sur le mode d'utilisation des informations présentées, et un rappel des lignes directrices suivies pour la compilation et la synthèse des observations retenues. Il est impératif d'assimiler le contenu de cette introduction si l'on désire accéder rapidement à l'information. L'utilisation de moyens informatiques dans le traitement des données collectées permet leur présentation multiforme. Ainsi les deux parties essentielles de l'ouvrage traitent respectivement des cas d'associations répertoriées hôtes-champignons (553p.), suivi des activités respectives des espèces fongiques incriminées (447p.).

Dans la première partie, les plantes-hôtes sont présentées par ordre alphabétique, par familles et genres respectifs. Pour chaque genre est fournie une liste numérotée des espèces recensées, parfois avec mention de synonymies connues, accompagnée du ou des noms usuels employés dans les divers états américains. Suit la liste des champignons associés, chacun étant pourvu d'une annotation numérique, renvoyant à l'espèce végétale, et de la mention de la maladie fongique induite. Sont également reproduites des précisions sur la répartition géographique et les clefs numériques des références bibliographiques appropriées.

La deuxième partie présente les champignons également en ordre alphabétique par genres, avec indication du groupement taxonomique dont ils relèvent, et espèces. Pour chaque espèce, les auteurs fournissent une liste assez exhaustive des synonymes connus, des notes sur sa répartition géographique et ses liens de nature phytopathologique. L'ouvrage se complète par une liste numérotée des références bibliographiques s'étalant en double colonne sur 64 pages, un index des genres des plantes-hôtes, celui des noms communs des plantes citées et, enfin, des binomes de champignons accompagnés de leurs noms d'auteurs.

Globalement cet index exhaustif des champignons et de leurs plantes-hôtes aux Etats-Unis, est remarquable par la qualité de sa présentation et reste d'un prix abordable. Le texte est clair, aéré et permet un balayage visuel rapide. Le niveau scientifi-

que de l'information fournie est également excellent et cela malgré la masse énorme de données traitées, plusieurs spécialistes y ayant largement contribué. Cet ouvrage se révèle être un outil essentiel de référence, à l'échelle mondiale, pour tous les professionnels d'horizons divers intéressés de près ou de loin par les champignons.

J. Mouchacca

BON M., 1990 - Flore Mycologique d'Europe 1. Les Hygrophores. *Doc. Mycol.*, Mém. H. S. N° 1, 99p., 6 col. pl.

This is the first of a proposed series of monographic accounts on European macromycetes. It is presented as a soft-cover volume, containing detailed, illustrated keys. The general format closely follows the now familiar pattern established by Marcel Bon in his many accounts within the journal, *Documents Mycologiques*, but with the addition of colour plates depicting original water-colour illustrations by the author. Three genera are recognized in the family Hygrophoraceae, namely *Cuphophyllus* (= *Camarophyllus* ss auct. pl.), *Hygrocybe* and *Hygrophorus*. This contrasts with the account published at about the same time by Kovalenko (*Definitorum Fungorum URSS. Ordo Hygrophorales*, 1989) who also included *Camarophyllopsis*, *Gliophorus*, *Neohygrocybe*, and *Pseudohygrophorus*, all of which are transferred to the Tricholomatales by Bon. Both authors, however, maintain Hygrophoraceae as the only family of the order Hygrophorales, whilst the *Flora Agaricina Neerlandica*, 1988, chose to include the Hygrophoraceae genera within Tricholomataceae.

The first 23 pages deal with the definition and characteristics of the family, and each character, both macro- and micro-, are usefully tabulated to readily provide the reader with information on which species are bisporic, have widely spaced lamellae, or have a bitter taste. Each species description is built into the key, together with references to illustrations and other accounts, appearing in abbreviated form. In addition, the descriptions are accompanied by a small line-drawing depicting spores, and often cuticular structure, basidia, and/or cystidia for each species. The genus *Cuphophyllus* contains, somewhat surprisingly, two lignicolous species, *Omphalina wynnei* (Berk. & Br.) P.D. Orton and *Chrysomphalina chrysophylla* (Fr.) Clémençon. In the final chapter the author attempts to offer some views on the phylogeny of Hygrophoraceae, always a risky business in the absence of consideration on the tropical mycoflora.

This is an easy to use account, and once the reader is accustomed to the system of abbreviations, the considerable amount of information available is much appreciated. The colour illustrations offer a decided advantage over other accounts, with 54 species arranged on six pages. The delicate paintings generally illustrate at least two basidomes for each species, together with a vertical section. An extremely useful publication for the field mycologist and one looks forward to further volumes in the series.

D.N. Pegler.

ANNONCE

Le onzième congrès de la Société Internationale de Mycologie humaine et animale (ISHAM 1991) se tiendra à Montréal du 24 au 28 juin 1991 (secrétariat du congrès: c/o JPdL Multi Management Inc., 1410 Stanley, Suite 609, Montréal, Québec, Canada H3A 1P8).

The 11th Congress of the Internation Society for Human and Animal Mycology will be held in Montréal (Québec, Canada) on June 24-28, 1991 (Congress secrétariat: c/o JPdL Multi Management Inc., 1410 Stanley, Suite 609, Montréal, Québec, Canada H3A 1P8).

Cryptogamie, Mycol. 1990, 11 (4): 335-336

TABLE DU TOME 11

Commission paritaire n° 58611
Dépôt légal n° 15313 - Imprimerie de Montligeon
Sortie des presses le 20 décembre 1990
Imprimé en France
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)
Président : A. Couté; Secrétaire : D. Lamy
Trésorier : R. Baudoin; Directeur de la publication : H. Causse



CRYPTOGAMIE – MYCOLOGIE

Les manuscrits doivent être adressés (en 2 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Le Bureau peut demander l'avis d'un lecteur choisi pour sa spécialité, même s'il n'appartient pas au Comité de lecture.

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1er fascicule de chaque tome.

ABONNEMENTS A CRYPTOGAMIE
Tome 12, 1991

CRYPTOGAMIE comprend trois Sections:
Algologie, Bryologie-Lichénologie, Mycologie

Abonnement à l'une ou l'autre Section pour 1991:

France	(326 F ht)	332,85 F ttc
Étranger		357,00 F

Abonnement aux 3 Sections pour 1991:

France	(918 F ht)	937,28 F ttc
Étranger		1000,00 F

Les anciens tomes et fascicules séparés de la REVUE DE MYCOLOGIE et de CRYPTOGAMIE-MYCOLOGIE sont toujours disponibles.

MÉMOIRES HORS SÉRIE

N° 2 (1942). **Les matières colorantes des champignons**, par I. Pastac. 88 pages : 15 F.

N° 3 (1943). **Les constituants de la membrane chez les champignons**, par R. Ulrich. 44 pages : 15 F.

N° 6 (1958). **Essai biotaxonomique sur les Hydnés résupinés et les Corticiés**, par J. Boidin. 390 pages, pl. et fig. : 120 F.

N° 7 (1959). **Les champignons et nous** (Chroniques) (II), par G. Becker. 94 pages : 25 F.

N° 8 (1966). **Catalogue de la Mycothèque** de la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. (1) Micromycètes. Macromycètes (première partie). 68 pages : 25 F.

N° 9 (1967). **Table des Matières** (1936-1965). 85 pages : 20 F. — (1966-1975). 30 pages : 10 F.

FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DÉPENDANCES
publiée sous la direction de M. Roger HEIM

Tome I. Les Lactario-Russulés, par Roger Heim (1938) *(épuisé)*.

Tome II. Les Rhodophylles, par Henri Romagnesi (1941). 164 pages, 46 fig. : 90 F.

Tome III. Les Mycènes, par Georges Métrod (1949). 144 pages, 88 fig. : 90 F.

Tome IV. Les Discomycètes de Madagascar, par Marcelle Le Gal (1953). 465 pages, 172 fig. : 150 F.

Tome V. Les Urédinées, par Gilbert Bouriquet et J.P. Bassino (1965). 180 pages, 97 fig., 4 pl. hors-texte : 90 F.

Règlements :

- par virement postal au nom de A.D.A.C. - CRYPTOGAMIE
12 rue Buffon, 75005 Paris, C.C.P. La Source 34 764 05S

- par chèque bancaire établi au même ordre